

NEUBAUER UND VOGEL

ANLEITUNG

ZUR

QUALITATIVEN UND QUANTITATIVEN

ANALYSE DES HARNS.

ZUM GEBRAUCHE

FÜR

MEDICINER, CHEMIKER UND PHARMACEUTEN.

ZEHNTE UMGEARBEITETE UND VERMEHRTE AUFLAGE.

ANALYTISCHER THEIL.

IN DRITTER AUFLAGE BEARBEITET VON

Dr. H. HUPPERT

o. ö. Professor der medicinischen Chemie an der k. k. deutschen Universität zu Prag.

MIT 55 HOLZSCHNITTEN UND 4 TAFELN.

WIESBADEN.

C. W. KREIDEL'S VERLAG.

1898.

Druck von Carl Ritter in Wiesbaden.

Vorwort zur zehnten Auflage.

Wie bei den beiden früheren von mir bearbeiteten Auflagen hat mich auch bei dieser das Bestreben geleitet, neben einer möglichst vollständigen Wiedergabe des überhaupt Beachtenswerthen den Stoff nach eigner Erfahrung kritisch zu sichten und das Verbürgte und Wichtigere von dem minder Sicheren und Nebensächlichen in der Darstellung zu unterscheiden. Für ein brauchbares Handbuch schien es mir erforderlich, die werthvolleren Methoden und die diese begründenden Thatsachen, zwar in möglichst knapper, mit dem Verständniss noch verträglicher Fassung, aber mit einer solchen Ausführlichkeit zu beschreiben, dass das Nachlesen der Originalabhandlungen entbehrt werden kann. Den Bedürfnissen des Anfängers und des mit dem Gegenstand bereits Vertrauten wurde dabei in gleicher Weise Rechnung getragen.

Die rege Thätigkeit der letzten seit dem Erscheinen der neunten Auflage verflossenen acht Jahre auf dem Gebiete der physiologischen Chemie hat der neuen Auflage eine grosse Fülle von Stoff zugeführt. Gegen fünfzig neue Artikel sind in das Buch aufgenommen worden und jeder einzelne Abschnitt hat einer mehr oder minder umfänglichen Neugestaltung unterzogen werden müssen. Obwohl einiges Ueberholte in der neuen Auflage nicht mehr berücksichtigt zu werden brauchte, liess sich aus diesem Grunde eine Zunahme ihres Umfangs ohne Schädigung des Inhalts nicht umgehen.

An Stelle einer Reihe veralteter Abbildungen sind neue getreten, so dass die Zahl derselben um sieben, auf fünfundfünfzig, gestiegen ist. Die erweiterte und gründlichere Kenntniss der Harnfarbstoffe hat die Zugabe einer zweiten Spectraltafel nöthig erscheinen lassen.

Nach Form und Inhalt wird das Buch auch Solchen von Nutzen sein, welche sich, ausser mit der Chemie des Harns, mit der physiologischen Chemie überhaupt befassen.

Prag, im Juli 1898. **Huppert.**

Inhalt.

Analytischer Theil, von H. Huppert.

Erste Abtheilung.

Bestandtheile des Harns.

§ 1. Die physikalischen und allgemeinen chemischen Eigenschaften des Harns.

Der normale Harn des Menschen ist eine wässrige Lösung verschiedener anorganischer und organischer basischer und saurer Körper, deren Hauptrepräsentanten einerseits Kali, Natron und Ammoniak, Kalk und Magnesia, Harnstoff, Kreatinin und die Xanthinbasen, andererseits Salzsäure, Kohlensäure, Phosphorsäure, gewöhnliche und mit aromatischen Alkoholen zu sauren Aethern verbundene Schwefelsäure, Harnsäure, Oxalsäure, Hippursäure und andere fette und aromatische Säuren ausmachen, an welche sich Farbstoffe und geringe Mengen der Eiweissgruppe angehöriger Substanz anschliessen. Indifferente Substanzen, wie die Kohlenhydrate, sind im Harn nur in geringer Anzahl und unbedeutender Menge enthalten. Auch kommen im Harn die Gase der atmosphärischen Luft (Sauerstoff, Stickstoff, Kohlensäure) in geringer Menge gelöst vor.

Diesen normalen Bestandtheilen des Harns gesellt sich unter pathologischen Verhältnissen noch die eine oder andere in der Harnflüssigkeit lösliche Substanz hinzu: Eiweissstoffe, Zucker, Gallenbestandtheile (Gallenfarbstoff) u. s. w., oder geformte Gewebsbestandtheile: Blut, das Secret der entzündeten Schleimhäute der Harnwege, Eiter u. s. w.

Auch kommen im Harn specifisch giftige Substanzen vor (Ptomaine, Toxine), im pathologischen Harn in grösserer Menge als im normalen.

Unserer Nahrung ungewöhnliche Substanzen können nach ihrer Einverleibung im Harn entweder unverändert wieder erscheinen, oder sie erleiden vorher durch Oxydation, durch Aufnahme von Stoffwechselproducten, eine Umgestaltung; es erfährt durch sie, wenn sie im Harn überhaupt wieder auftreten, der Bestand des Harns an Basen oder Säuren einen Zuwachs.

Von den in Lösung befindlichen salzbildenden Körpern theilen sich, wie in jeder Salzlösung, die Säuren in die Basen nach ihrer relativen Affinität (Avididät) und ihrer Menge (Masse). Es besteht zwischen Säuren und Basen ein chemisches Gleichgewicht, das unter gewöhnlichen Verhältnissen nur durch Ausscheidung einzelner Harnbestandtheile, solcher, die unter den gegebenen Verhältnissen nicht in Lösung bleiben können, (Entweichen von Kohlensäure, Ausfallen von Harnsäure oder Uraten u. s. w.), vorübergehend gestört wird. Es ist daher streng genommen nicht richtig, wenn man sagt, dass gewisse saure Bestandtheile nur an gewisse basische, z. B. das Chlor nur an Natrium oder Kalium, gebunden seien. Doch vereinfacht eine solche Ausdrucksweise vielfach die Darstellung der Thatsachen.

Unter normalen Verhältnissen und bei gewöhnlicher Kost bilden die Säuren und Basen in der Tagesmenge des Harns ein gegen Lackmus sauer reagirendes Gemisch, die Basen reichen nicht hin, die Säuren ganz zu sättigen und der Harn enthält dann neben den normalen Salzen der einbasischen Säuren saures Salz, vor Allem zweifach saures Phosphat. Es braucht aber nicht alle Phosphorsäure als dieses Salz zugegen zu sein, sondern es kann bei saurer Reaction der Harn neben dem zweifach sauren Phosphat auch das gegen Lackmus alkalische einfach saure Phosphat enthalten. Bei einem bestimmten, sich in engen Grenzen bewegenden Verhältniss dieser beiden Salze zu einander reagirt der Harn amphoter (bläut rothes und röthet blaues Lackmuspapier). Gegen Lackmus indifferent (neutral) ist der normale Harn niemals. Freie Säure enthält der Harn unter keinen Umständen.

Ein direkter Beweis hierfür ergiebt sich aus dem Umstand dass, wenn der Harn überhaupt direkt Hämatoporphyrin spectroskopisch erkennen lässt, das „alkalische" Spectrum d. i. das des freien Farbstoffs, seltener das „metallische" Spectrum, das der Verbindung des Hämatoporphyrins mit einem Metall, wahrgenommen wird.

Dem Körper zugeführte oder in ihm entstehende fixe Säuren entziehen dem Organismus Ammoniak (beim Menschen und beim Hund) oder fixe Basis (beim Kaninchen) und wenn trotzdem die gewöhnlichen Basen nicht ausreichten mit den Säuren Salze zu bilden, so würde die freie Säure vom Harnstoff gebunden, der immer in grossem Ueberschuss vorhanden ist.

Im Gegensatz zu der Thatsache, dass der normale Harn in der Regel saure Salze enthält, kann innerhalb der physiologischen Grenzen unter bestimmten Umständen das gewöhnliche Verhältniss zwischen den Basen und Säuren des Harns zu Ungunsten der Säuren vorübergehend gestört werden, so dass der Harn alkalisch reagirt. Das ist unter physiologischen Verhältnissen der Fall während der Verdauung, wenn der saure Magensaft abgesondert wird, oder wenn in den Harn mehr als gewöhnlich Säure sättigende Verbindungen übergehen, z. B. kohlensaure Salze nach dem Genuss von löslichen Carbonaten oder derartiger

organisch-saurer Salze, welche im Körper zu kohlensauren verbrennen; unlösliche Carbonate (Calcium- und Magnesiumcarbonat) sind dagegen nach Luff[1]) ohne Einfluss. Auch eine plötzliche starke Steigerung der Kochsalzzufuhr kann nach Gruber, wie Koeppe[2]) bestätigt, den Harn vorübergehend alkalisch machen. Unter pathologischen Verhältnissen kann der Harn bei der Resorption alkalischer Transsudate oder nach Blutungen in den Darm (durch Resorption der alkalischen Blutsalze) alkalische Reaction annehmen (Quincke[3]).

Da die im Harn möglichen sauren Salze, sowie die gleichzeitig vorhandenen normalen Salze des Harns in Wasser alle löslich sind, so ist der normale saure Harn klar; nur dann trübt sich saurer Harn, meist erst nach der Entleerung, zuweilen schon in der Blase, wenn das Wasser desselben nicht hinreicht, die im Harn vorhandenen dreifach sauren harnsauren Salze (Quadriurate, Tetraurate) in Lösung zu erhalten. Wird dagegen der normale Harn mit alkalischer Reaction entleert, so ist er trüb; denn unter den alkalisch reagirenden Salzen des Harns, welche sich aus den Basen und Säuren des Harns bilden können, befinden sich solche, welche in Wasser oder der Salzlösung des Harns schwer löslich oder unlöslich sind: die einfach sauren und normalen Phosphate und die normalen kohlensauren Salze der alkalischen Erden.

Aber auch der klare Harn enthält nicht alle seine Bestandtheile in ächter Lösung; der eiweissartige Bestandtheil des Harns und vielleicht noch andere sind in gequollenem Zustande vorhanden und daher rührt es, dass Harn mit abnehmender Geschwindigkeit filtrirt, sogar das Filter völlig verstopft.

Der frische saure Harn enthält eine spärliche Menge Epithelien und Schleimkörperchen, zuweilen auch Krystalle suspendirt, welche sich beim Stehen als leichtes Wölkchen (Nubecula) absetzen.

Beim Sättigen des Harns mit Neutralsalz in der Kälte geben nach Edmunds[4]) nur Ammonsulphat und Magnesiumsulphat Niederschläge, Kochsalz und Natriumsulphat dagegen nicht.

Ammonsulphat fällt aus Menschen- oder Pferdeharn, neben etwas Calciumphosphat, langsam stark gefärbtes Ammonurat, Magnesiumsulphat aus Menschenharn sehr wenig Substanz, hauptsächlich Gyps und Magnesiumphosphat sowie etwas Urobilin, aus (alkalischem) Pferdeharn dieselben Salze und noch Magnesiumcarbonat. Der Niederschlag ist anfangs weiss, dunkelt aber an der Luft. Katzenharn verhält sich gegen Magnesiumsulphat qualitativ wie der Menschenharn. — Ueber die Fällbarkeit der Farbstoffe durch Ammonsulphat wird bei diesen berichtet.

Die Concentration des normalen Harns schwankt in weiten Grenzen, seine Dichte ungefähr zwischen 1002 und 1030; Concentration und Dichtig-

---

1) Luff, bei Sir William Roberts, Uric acid gravel and Gout, p. 66.

2) M. Gruber, Beiträge zur Physiologie. Karl Ludwig gewidmet von seinen Schülern. 1887. 68. — H. Koeppe, Pflüger's Archiv **62**. 567.

3) Quincke, Zeitschr. f. klin. Med. **7**. Suppl. 22. 1884.

4) A. Edmunds, Journ. of Physiol. **17**. 451. 1895.

keit sind wesentlich abhängig von der Wasserzufuhr zum Körper und von der Abscheidung des Wassers auf anderen Wegen als durch die Nieren. Reichlicher Genuss von Wasser setzt daher die Dichte des Harns herab, Beschränkung der Wasseraufnahme oder gesteigerter Verlust des Körpers an Wasser durch Haut und Lungen, wie er bei hoher Temperatur der Luft, bei anstrengender Muskelthätigkeit, bei Fieber stattfindet, oder wässrige Darmausleerung, die Bildung von Transsudaten, erhöhen sie. Von Stoffen, welche dem normalen Harn nicht angehören, bewirkt allein der Zucker, welcher im Diabetes zu mehreren hundert Grammen täglich mit dem Harn ausgeschieden werden kann, eine erhebliche Zunahme der Concentration; diabetischer Harn besitzt daher in der Regel eine Dichte von 1030—1040 und darüber. — Der Harn der Thiere hat meist eine bedeutend höhere Dichte als der Menschenharn.

Bestimmungen des Gefrierpunkts (aus welchem sich der osmotische Druck ableiten lässt) sind von Korányi und von Dreser[1]) mittelst des Beckmann'schen Apparates ausgeführt worden. Nach Korányi beträgt die Gefrierpunktserniedrigung für den 24 St. Harn Gesunder 0,90—2,13°; es ergaben sich keine einfachen Beziehungen zwischen dieser und der Dichte des Harns oder der Tagesmenge, aber im Allgemeinen war die Erniedrigung gross bei wenig und bei dichtem Harn und umgekehrt. Bei dünnerem Harn (nach viel Getränk, bei Diabetes insipidus) kann nach Dreser die Gefrierpunktserniedrigung sinken auf 0,16—0,36°; beim Kaninchen beträgt sie 1,1—1,5°, beim Frosch 0,24°, bei der durstenden Katze bis 4,94°, beim Nachtharn des Menschen 2,3°.

Die Farbe des normalen Harns kann alle Abstufungen zwischen blassgelb und rothbraun durchlaufen; sie ist in erster Linie bedingt von der Art und der Menge der in ihm enthaltenen Farbstoffe, unter sonst gleichen Verhältnissen selbstverständlich auch von der Concentration. Aber auch in ein und demselben Harn wechselt die Farbe mit der Reaction: saurer Harn wird beim Uebergang zur alkalischen Reaction blasser, alkalischer durch Ertheilung saurer Reaction intensiver gefärbt.

Nach den von Vierordt sowie von K. A. H. Mörner ausgeführten Messungen nimmt die Lichtabsorption des Harns vom rothen zum blauen Ende des Spectrums zu, was seinen Grund darin hat, dass sich das in jedem Harn vorkommende Urochrom ebenso verhält und dass die übrigen hauptsächlichsten Harnfarbstoffe (Urobilin, Hämatoporphyrin, Uroerythrin) bei genügender Concentration ihrer Lösungen Absorptionsbänder im stärker brechbaren Theile des Spectrums zeigen.

Absorptionsstreifen (Urobilin, Haematoporphyrin) lässt der Harn nur ausnahmsweise erkennen.

Dem normalen Harn fremde Farbstoffe verändern die Farbe des Harns in eigenthümlicher Weise; Gallenfarbstoff verleiht ihm eine braune oder grüne Farbe, Blut und Haemoglobin eine mehr oder minder dunkelrothe, Santonin eine gelbe oder rothe u. s. w. Manche Fruchtfarbstoffe (der schwarzen Kirschen, der Heidelbeeren) gehen in den Harn

---

[1]) A. v. Korányi, Ungar. Archiv f. Med. 3. 1894; Jahresb. f. Thierch. 1894. 264. — H. Dreser, Arch. f. exper. Pathol. 29. 303. 1892.

über. Wieder andere fremde Stoffe bewirken, dass der Harn erst einige Zeit nach seiner Entleerung eine auffällige Veränderung seiner Farbe erleidet. So färbt sich der Harn nach der Einverleibung gewisser aromatischer Alkohole (Phenol) beim Stehen an der Luft braun oder grünbraun, bei dem Bestehen eines melanotischen Carcinoms selbst schwarz.

Ausser der Farbe kommen dem Harn noch zwei andere optische Eigenschaften zu: er fluorescirt (Schleiss v. Löwenfeld, Jaffé[1]) und er ist optisch activ. Fast jeder normale Harn, auch der der Thiere, dreht die Ebene des polarisirten Lichtes nach links, niemals nach rechts und nur selten weder in dem einen noch in dem anderen Sinne. Der blassgelbe normale Harn fluorescirt bläulich, der gelbrothe grün oder gelb; eiweisshaltiger Harn fluorescirt lebhafter als normaler, ammoniakalisch gewordener lebhafter als unzersetzter.

Der normale Harn besitzt einen eigenthümlichen Geruch, derselbe ist verschieden und zunächst abhängig von der Nahrung; auffälligere Unterschiede treten nach der Zufuhr besonderer Stoffe hervor (Spargel, Terpentinöl u. a.).

Dem Harn kommen reducirende Eigenschaften zu. Normaler menschlicher Harn reducirt alkalische Kupferoxydlösung im Mittel so stark, wie eine 0,2—0,3 procentige Traubenzuckerlösung. — Jeder normale und pathologische Harn führt Orthonitrophenolpropriolsäure beim Erwärmen mit Natron, allerdings nur in geringem Grade, in Indigblau über (Heckenhayn). — Ebenso wird Methylenblau durch normalen Harn entfärbt, in einer Menge, wie durch eine 0,1 proc. Zuckerlösung (Wender[2]).

Normaler Harn färbt sich mit α-Naphtol und concentrirter Schwefelsäure violett, mit Thymol und concentrirter Schwefelsäure, zinnober- bis carminroth (Molisch).

Versetzt man normalen Harn mit einer verdünnten Lösung von Diazobenzolsulfosäure, so nimmt er eine schwache Gelbfärbung an; bisweilen wird dann der Harn auf Zusatz von Ammoniak orange und der dabei entstandene Phosphatniederschlag ist in den oberen Schichten roth gefärbt. Gewisse pathologische Harne (bei Typhus, Lungentuberkulose u. s. w.) färben sich mit dem Reagens und Ammoniak carmin- oder scharlachroth und liefern einen grünen (oder violetten) Niederschlag (Ehrlich'sche Diazoreaction[3]). Bei Verwendung concentrirter Lösungen der Diazobenzolsulfosäure färben sich die meisten Harne Gesunder sowie fiebernder und fieberfreier Kranker schön bordeauxroth; die Reaction scheint von verschiedenen Substanzen herzurühren (Penzoldt[4]).

Beim Stehen an der Luft, unter pathologischen Verhältnissen zuweilen auch schon in der Blase, erleidet der Harn Zersetzungen, welche durch niedere, in den Harn gelangte pflanzliche Organismen hervorgerufen werden. Vier dieser Zersetzungen können in jedem Harn auftreten: die alkalische Harngährung, die bei derselben mit Bildung flüchtiger Fettsäuren einhergehende, die Schwefelwasserstoffgährung und die Salpetrigsäuregährung.

---

[1]) Schleiss v. Löwenfeld, Bayer. Intellig. Blatt 45. 1861; Schmidt's Jahrbb. **120**. 10. — Jaffé, Virchow's Archiv **47**. 421. 407. 1869.

[2]) N. Wender, Pharmac. Post **26**. 393; Chem. Centralbl. 1893. **2**. 670.

[3]) Ehrlich, Ztschr. f. klin. Med. **5**. 285. 1882.

[4]) Penzoldt, Berliner klin. Wochenschr. 1883. No. 14 u. 49.

Die auffälligste und am Besten gekannte Veränderung dieser Art ist die alkalische oder ammoniakalische Harngährung. Sie kann durch eine grosse Anzahl verschiedener Mikroorganismen hervorgerufen werden und besteht wesentlich in einer Umwandlung des Harnstoffs in kohlensaures Ammon. Das Auftreten von kohlensaurem Ammon im Harn bewirkt in ihm dieselben Veränderungen wie der Zusatz von kohlensaurem Ammon: seine Farbe wird blasser und es entstehen in ihm Niederschläge von normalen phosphorsauren alkalischen Erden, phosphorsaurer Ammon-Magnesia, harnsaurem Ammon, oxalsaurem Kalk.

Neben der alkalischen Gährung vollzieht sich eine andere, bei welcher, wahrscheinlich auf Kosten der Kohlenhydrate des Harns, flüchtige Fettsäuren, vor allem Essigsäure, entstehen, ohne dass jedoch dabei der Harn seine alkalische Reaction verliert (Salkowski[1]); diese Gährung verläuft ausserordentlich langsam (Salkowski[2]), ihr Ferment ist unbekannt.

Die Schwefelwasserstoffgährung geht unter Bildung von Schwefelwasserstoff vor sich; Mikroben, welche eine solche bewirken, sind bekannt.

Hierher zu zählen wäre noch die sog. saure Harngährung, von deren Bestehen ältere Chemiker (Scherer, Lehmann[3]) auf das Bestimmteste überzeugt waren. Sie sollte einige Tage, bis zum Eintritt der alkalischen Gährung anhalten und ihren Ausdruck in der Zunahme der Acidität finden. Voit und F. Hofmann bestritten aber die Richtigkeit dieser Thatsache und Röhmann[4]) konnte nur ausnahmsweise eine grössere Steigerung des Säuregehaltes des Harns nachweisen. Delépine[5]) macht die in dieser Hinsicht bemerkenswerthe Angabe, dass sich aus cystinhaltigem Harn das Cystin schneller abscheide, wenn man die spontane saure Gährung abwarte, als wenn man Essigsäure zusetze. Die Gährung erfolge am schnellsten bei 40°, werde bei 60° unterbrochen und werde durch einen abfiltrirbaren Organismus (einen Hefepilz?) unterhalten. Bei der Schwefelwasserstoffgährung bleibt der Harn anfangs sauer, die Bildung von Schwefelwasserstoff könnte aber zur Zunahme der Acidität beitragen. Die saure Harngährung ist nicht zu verwechseln mit der die alkalische Gährung begleitenden, mit der Bildung flüchtiger Fettsäuren verbundenen.

Von anderen Gährungen sind nur zeitweilig beobachtet worden die unter Gasbildung verlaufenden und eine Schleimgährung.

Die unter Gasbildung vor sich gehende Gährung kann verschiedener Art sein. Es kann bei Diabetikern der Zucker innerhalb der Blase, wie ausserhalb derselben, durch Alkoholhefe bloss unter Entwicklung von Kohlensäure vergähren (Senator[6]), oder es kann, wie bei der Buttersäuregährung, neben der Kohlensäure noch Wasserstoff in erheblicher Menge auftreten, welche von sehr geringen Mengen Sumpfgas begleitet werden. Eine solche Gährung innerhalb der Blase ist beobachtet worden von Fr. Müller bei leichtem Diabetes unter Verbrauch des Zuckers, von Heyse bei Cystitis in zuckerfreiem Harn, von Favre und bei Diabetes von v. Frisch[7]). Heyse hat als Erreger der Gährung in seinem Fall das Bacterium lactis aerogenes Escherich erkannt. Dasselbe bildet kurze dicke ruhende Stäbchen mit stark abgerundeten Enden, entwickelt in schwach alkalischen Flüssigkeiten mit Zucker sowie mit Fleischextract Kohlensäure, Wasserstoff und geringe Mengen Methan, aber nicht mit Eiweiss und Pepton, sowie nicht in normalem Harn. Die Gährung ist entweder mit Säurebildung oder mit dem Auftreten von alkalischer Reaction, aber nicht der ammoniakalischen Harngährung, verbunden. Heyse hält es für wahr-

---

1) Salkowski, Ztschr. f. physiol. Ch. **13**. 264. 1889.
2) Salkowski, Ztschr. f. physiol. Ch. **17** 273. 1892.
3) C. G. Lehmann, Lehrbuch der physiologischen Chemie, 1853. **2**. 356.
4) F. Röhmann, Ztschr. f. physiol. Ch. **5**. 94. 1881.
5) Sh. Delépine, Proc. roy. Soc. **47**. 198; Jahresb. f. Thierch. 1890. 395.
6) Senator, Internationale Beiträge zur wissensch. Med. **3**. 319. 1891.
7) Fr. Müller, Berl. klin. Wochenschr. 41. 1889. 889. — Heyse, Ztschr. f. klin. Med. **24**. 130. 1894. — Favre, Ziegler u. Nauwerk's Beiträge zur pathol. Anat. **3**. 161. 1888. — v. Frisch, Wiener med. Presse **37**. 1586. 1896.

scheinlich, dass auch in dem Fall von Müller dasselbe Ferment Ursache der Gährung war. In dem Fall von v. Frisch veranlasste der Soorpilz die Gasentwicklung. Als Erreger der Gasentwicklung beschreibt Favre einen beweglichens Bacillus eigner Art. Er erzeugte ausser den genannten drei Gasarten flüchtige Fettsäuren, (Ameisensäure, Propionsäure, Isobuttersäure) aber keine Milchsäure, verzehrte Eiweiss, aber keinen Zucker.

Gasbildende bewegliche wie es scheint mit einander identische Bacillen bei Cystitis sind noch gefunden worden von Schow und von Schnitzler[1]). Schow benennt den von ihm beobachteten Coccobacillus aerogenes vesicae.

Bei diesen Gasgährungen kann sich soviel Gas in der Blase ansammeln, dass es mit dem Harn entleert wird (Pneumaturie); es kann aber auch diese der Wahrnehmung entgehen.

Schleimgährung. Malerba u. Sanna-Salaris haben aus schleimigem Harn ein spiraliges Bakterium, B. gliscrogenum, Gliscrobacterium isolirt, welches normalem Harn bei Bluttemperatur in 24—36 St. schleimige Beschaffenheit ertheilt. Albertoni[2]), welcher den Harn durch ein langes, mit Punkten versehenes Bakterium schleimig machen konnte, schlug aus derartigem Harn mittelst Kupfersulphat und Natronlauge eine Substanz nieder, welche, wie das thierische Gummi, mit Naphtol und Schwefelsäure Furfurolreaction gab, während Malerba[3]) selbst aus solchem Harn mit Alkohol einen Körper mit unzweifelhaften Eigenschaften eines Eiweisskörpers („Gliscrin") fällte. Coronedi wieder isolirte aus einem Harn, welcher 2 Jahre lang mit fadenziehender Beschaffenheit entleert wurde, eine Mikrobe, welche Harn gleichfalls schleimig machte; das Produkt verhielt sich dem thierischen Gummi ähnlich. Eine der von Malerba ähnliche Beobachtung liegt noch von Reale[3]) vor. Es ist unklar, um was es sich hierbei gehandelt hat.

Ausser den Gährungserregern von bekannter Wirkung finden sich im Harn noch zahlreiche andere, bewegliche und unbewegliche niedere Organismen, von denen man nicht weiss, welche Zersetzung sie bewirken. In saurem Harn, namentlich aber in zuckerhaltigem, entwickeln sich ausserdem Spross- und Fadenpilze.

Ueber die im Harn Gesunder vorkommenden Organismen liegen Beobachtungen von Hofmeister[4]) vor.

Die Gährungen des Harns lassen sich durch verschiedene Zusätze unterdrücken, man kann sich derselben beim Sammeln grösserer Mengen Harns zur Sterilisirung desselben bedienen.

Ausgedehnte Untersuchungen über diesen Gegenstand hat Alexander Müller[5]) angestellt; der grössere Theil der folgenden Angaben rührt von ihm her. Die eingeklammerten Zahlen geben die zur Verhinderung der Gährung auf das Liter erforderlichen Mengen Substanz an.

---

1) Schow, Centralbl. f. Bakteriologie 21. **12**. 745. 1892. — J. Schnitzler, daselbst 2. **13**. 1893.

2) P. Malerba u. Sanna-Salaris, Rendiconto dell' Accad. delle sc. fisiche e matemat. di Napoli 1888. — P. Albertoni, Ann. di chim. e farmacol. [4] **10**. 267; Memorie della r. Accad. di sc. dell' Istituto di Bologna [4] **9**. 1888; Jahresb. f. Thierch. 1889. 466.

3) Malerba, Ztschr. f. physiol. Ch. **15**. 539. 1891. — J. Coronedi, Ann. di chim. e di farmac. **15**. 314; Moleschott's Unters. **14**. 637; Jahresb. f. Thierch. 1892. 46. — R. Reale, Rivista clin. e terap. 1. 1893; Jahresb. f. Thierch. 1894. 691.

4) F. Hofmeister, Fortschritte d. Med. **11**. 637 u. 689.

5) Alexander Müller, Landwirthsch. Versuchsstationen **32**. 271. 1886; Berichte der chem. Gesellsch. **19**. Ref. 257. 1886.

Schweflige Säure, Salzsäure (10 cc 1,12), Salpetersäure, Schwefelsäure, Oxalsäure (5.5 g krystallisirte), Essigsäure (6,3 g $C_2H_4O_2$). (Die organischen Säuren werden allmählich vom Schimmel aufgezehrt.) Chlorkalk (5,5 g, wirkt ohne Verlust von Stickstoff), Kaliumbichromat (5,7 g), Kupfersulphat (besser als) Bleinitrat (6,2 g), Schwefelkohlenstoff (2,5 cc), Aether (5 cc, weniger wirksam als) Alkohol (10 cc), Chloroform (2,5 cc), Thymol (2 g in alkoholischer Lösung zu sauerem Harn), Phenol (1 g), salzsaures Chinolin (2 g, nach Donath[1]), Salicylsäure (10 g), Kampher.

Zusatz von 1 % Fluornatrium zum Harn oder, nach Entfernung des Kalks durch 1 % Natriumoxalat Zusatz von nur 0,6 % Fluornatrium hält den Harn nach Arthus und Huber[2]) vollkommen unzersetzt. — Etwas concentrirtere Lösung von Natriumselenit hindern die ammoniakalische Gährung in merklicher Weise (Czapek und Weil[3]). — Am Wirksamsten erweisen sich nach Huguet[4]) Quecksilbersalze; ein Zusatz von 0,01 g Quecksilberjodid (in 0,2 g Jodkalium gelöst) oder von 0,2 g Sublimat zu 250 cc Harn sterilisirt besser als 0,5 g Fluorammon oder 10 Tropfen Chloroform. Huguet empfiehlt für die 24 st. Harnmenge 2 cc einer Lösung von 10 g Sublimat und 1 g Kochsalz, oder von 5 g Quecksilberjodid und 10 g Jodkalium, oder von 10 g Quecksilbercyanid in 100 cc.

Nach Nicolaier verhindert Urotropin (Hexamethylentriamin) und nach Oechsner[5]) das von ihm entdeckte, der Pyridinreihe angehörige Ptomain schon in kleiner Dosis die ammoniakalische Harngährung.

Die flüchtigen Substanzen müssen durch Verschliessen des Gefässes am Verdunsten verhindert werden.

Den Harn durch Kochen zu sterilisieren ist nur dann zulässig, wenn die dabei eintretende Zersetzung dem beabsichtigten Zweck nicht hinderlich wird.

Der Harn der Fleischfresser stimmt in seinen allgemeinen chemischen Eigenschaften mit dem des Menschen überein; im Harn des Hundes kommt eine besondere Säure, die Kynurensäure, vor. Der Harn der Pfanzenfresser unterscheidet sich dagegen von dem der Menschen und der Fleischfresser wesentlich durch das zeitweilige Zurücktreten der Phosphorsäure, seine oft alkalische Reaktion und zuweilen durch einen starken Gehalt an Hippursäure und anderen aromatischen Substanzen, Eigenthümlichkeiten, welche durch die Art der Nahrung bedingt sind. Bei Fütterung mit eiweissreicher Nahrung (Cerealien, Fleisch) oder im Hunger nimmt der Harn der Pflanzenfresser die Beschaffenheit des Harns der Fleischfresser an; umgekehrt lassen sich dem Harn des Menschen und der Fleischfresser durch eine gewisse Zusammensetzung der Nahrung die Eigenschaften des Herbivorenharns ertheilen.

Der Harn der Vögel, der Schlangen und anderer beschuppten Amphibien zeichnet sich vor dem der Säugethiere aus durch seine brei-

---

1) Donath, Berichte d. chem. Gesellsch. **14**. 184. 1881.

2) M. Arthus und A. Huber, Compt. rend. **116**. 839; Arch. de Physiol. norm. et pathol. **24**. 655. 1892.

3) Czapek u. Weil, Archiv f. exper. Pathol. **32**. 448. 1893.

4) R. Huguet, Journ. de Pharm. et de Chimie [5] **29**. 217; Chem. Centralbl. 1894. **1**. 846.

5) A. Nicolaier, Deutsche med. Wochenschr. 21. 1895. 541. — Oechsner de Coninck, Compt. rend. de la Soc. de Biol. **46**. 250. 1894.

artige Consistenz und das Vorwiegen der Harnsäure; die Harnsäure nimmt im Harn dieser Thiere dieselbe Stelle ein, wie im Harn der Säugethiere der Harnstoff.

Der Harn der Selachier ist von Herter, der des Karpfen von Rywosch[1]) untersucht worden.

I. Normale und abnorme Bestandtheile.

A. Anorganische.

§ 2.

Die gewöhnlichen anorganischen Bestandtheile des Harns sind Salzsäure, Schwefelsäure, Phosphorsäure, Kohlensäure; ausserdem kommen noch in Betracht kleine Mengen von Flusssäure, Kieselsäure, Salpetersäure und salpetriger Säure, sowie Wasserstoffsuperoxyd. Schwefelwasserstoff kann sich in demselben in Folge einer Gährung entwickeln. Bei einigen Thierspecies kommt auch unterschweflige Säure im Harn vor. An anorganischen Basen enthält der Harn wesentlich Kali, Natron, Ammoniak, Kalk und Magnesia; in der Harnasche lässt sich ferner constant eine Spur Eisen nachweisen.

Der Gehalt des Harns an feuerbeständigen Salzen schwankt, namentlich wegen des ungemein wechselnden Gehaltes an Chlornatrium, unter verschiedenen Verhältnissen erheblich; er beträgt für die 24 stündige Harnmenge 9—25 g.

Ueber die gegenseitigen Mengenverhältnisse der hauptsächlichsten anorganischen Säuren und Basen des normalen Menschenharns geben von Stadelmann[2]) angestellte Analysen eine gute Uebersicht, obwohl sie nicht für alle Fälle gelten können.

Die unten aufgeführten Zahlen sind das Mittel aus fünf Bestimmungen. In der ersten Reihe sind die Mengen der in der Tagesmenge Harn enthaltenen Substanzen in g nach Stadelmann mitgetheilt, in der zweiten Reihe ihr Aequivalentverhältniss (auf Wasserstoff bezogen), wobei die Schwefelsäure als normales, die Phosphorsäure als zweifach saures Salz angenommen wurde.

Cl	SO_4	PO_4	K	Na	H_4N	Ca	Mg
9,8491	2,7788	4,0586	2,5830	5,4780	0,6329	0,0405	0,0880
0,2774	0,0579	0,0427	0.0661	0,2382	0,0354	0,0020	0,0073

Die Summe der Säureäquivalente beträgt 0,3780, die der Basenäquivalente 0,3488. Das Aequivalent der Schwefelsäure ist zu hoch angenommen, weil ein Theil der Schwefelsäure im Harn als einbasische Schwefelsäure vorkommt und das der Phosphorsäure zu hoch, da der

---

1) E. Herter, Mitthl. aus der zoolog. Station zu Neapel **10**. 341; Jahresb. f. Thierch. 1891. 309. — D. Rywosch, Wiener med. Wochenschr. 47. 48. 1893.
2) E. Stadelmann, Arch. f. exper. Pathol. **17**. 433. 1885

Harn auch einfach saures Phosphat enthält. — Das Natrium reicht nicht aus, um alles Chlor zu binden.

Aehnliche Analysen haben Stadelmann an diabetischem Harn, Hopkins[1]) bei perniciöser Anämie vorgenommen. Ueber Analysen bei Nutzthieren berichtet nach verschiedenen Autoren Tereg[2]), an Hundeharn hat Gaehtgens[3]) eine Analyse der Mineralbestandtheile ausgeführt, an Pferdeharn bei Arbeit und Ruhe des Pferdes Fred Smith[4]).

a. Säuren.

1. Chlorwasserstoff.

A. *Vorkommen.* Der Gehalt des Harns an Chloriden ist wesentlich abhängig von der Kochsalzzufuhr, auch in Krankheiten. Er überschreitet selten eine in der Tagesmenge circa 15 g Chlornatrium entsprechende Menge. Bei anhaltender Abstinenz kann der Kochsalzgehalt des Harns bis auf Spuren sinken (Fr. Müller, Mester[5]); ebenso stark vermindert ist die Chlorausscheidung bei gewissen Krankheiten, so bei der croupösen Pneumonie während der Bildung des Exsudats. Der Harn der Thiere ist relativ arm an Chloriden. Bei schneller Resorption flüssiger Transsudate nehmen sie zu, nach Stadelmann[6]) auch bei interstitieller Hepatitis. Verabreichung von Schilddrüse steigert beim gesunden Hund, sowie Exstirpation der Schilddrüse bei gleich bleibendem Futter die Chlorausscheidung sichtlich (Roos[7]), Verabreichung von Kalisalzen beim Menschen erheblich (Bunge[8]).

Nach innerlicher Verabreichung von Chloroform, ebenso nach Inhalation desselben werden nach Zeller[9]) sowie nach Kast[10]) mehr anorganische Chloride abgeschieden als vorher; dasselbe ist der Fall nach Einführung von Methylenchlorid, von Trichloressigsäure und nach Levdansky von Trichlorbuttersäure in den Darm. Dagegen bewirken Chloral, Tetrachlorkohlenstoff und Dichloressigäther keine Vermehrung der Chloride.

Die Angaben von Berlioz und Lépinois[11]), dass nicht alles Chlor aus dem Harn direkt mit Silbernitrat gefällt werden könne, sondern ein Theil erst nach dem Veraschen, der Harn also (10—40 % des gesammten Chlors) organisch gebundenes Chlor enthalte, beruht auf analytischen Irrthümern, deren hauptsächlichster, wie Petit und Terrat[12]) zeigen, darin besteht, dass beim Ver-

1) Hopkins, Guy's Hospit. Reports **50**. 372. 1893.

2) F. Tereg, in W Ellenberger, Vergleichende Physiologie der Haussäugethiere **1**. 380. 1890.

3) C. Gaethgens, Ztschr. f. physiol. Ch. **4**. 36. 1880.

4) Fred Smith, Proc. of the roy. Soc. **46**. 328; Jahresb. f. Thierch. 1890. 190.

5) Fr. Müller, Verh. des VIII. Congresses f. innere Med. 1889. 396; Ztschr. f. klin. Med. **16**. 496. — B. Mester, Ztschr. f. klin. Med. **24**. 441.

6) E. Stadelmann, Archiv f. klin. Med. **33**. 526. 1883.

7) E. Roos, Ztschr. f. physiol. Ch. **21**. 25. 1895.

8) G. Bunge, Ztschr. f. Biol. **9**. 121. 1873.

9) Zeller, Ztschr. f. physiol. Ch. **8**. 74. 1883.

10) A. Kast, Ztschr. f. physiol. Ch. **11**. 277. 1887.

11) A. Berlioz u. E. Lépinois, Journ. de Pharm. et de Chimie [5] **29**. 288; Arch. de méd. expér. **6**. 203; Chem. Centralbl. 1894. **1**. 912 u. 1895. **1**. 495.

12) A. Petit u. P. Terrat, Journ. de Pharm. et de Chimie [5] **29**. 585; Chem. Centralbl. 1894. **2**. 246.

aschen des Harns mit Natriumcarbonat ohne genügende Anwendung von Salpeter cyansaures Alkali oder Cyanalkali entsteht, welche beide durch Silbernitrat gefällt werden.

B. *Eigenschaften.* 1. Die Chloride der im Harn vorkommenden anorganischen Basen sind alle leicht löslich. — Das Chlornatrium krystallisirt aus Harn beim Eindampfen in mehr oder minder wohl ausgebildeten Würfeln und Oktaëdern. 100 Theile Wasser lösen bei 20° 35.8, bei 40° 36.6 Theile Kochsalz. — Das Chlorkalium besitzt dieselbe Krystallform wie das Kochsalz und ähnliche Löslichkeitsverhältnisse. — Das Chlorammon scheidet sich meist in federfahnenähnlichen Massen aus und löst sich noch leichter als die genannten Chloride. — Das Chlorcalcium und das Chlormagnesium sind zerfliesslich und leicht löslich.

2. Salpetersaures Silberoxyd erzeugt in allen Flüssigkeiten, die Chloride enthalten, einen weissen käsigen Niederschlag, der sich durch seine Unlöslichkeit in Salpetersäure von den Silbersalzen der anderen im Harn vorkommenden Säuren unterscheidet.

3. Aus einer Lösung, welche Chlorid, normales Alkalichromat und Phosphat enthält, fällt bei allmählichem Zusatz von Silbernitrat erst Chlorsilber, darnach chromsaures Silber und zuletzt Silberphosphat. Das chromsaure Silber besitzt eine stark rothe Färbung und seine somit leicht erkenntliche Bildung zeigt an, dass alles Chlorid gefällt ist. (Bestimmung des Chlors durch Titriren nach Mohr.)

C. *Nachweis.* Giebt Harn mit Silbernitrat einen in reiner Salpetersäure unlöslichen Niederschlag, so ist die Gegenwart des Chlors genügend dargethan.

Die Reaction setzt voraus, dass andere, dem normalen Harn fremde Säuren, welche mit Silber gleichfalls in Salpetersäure unlösliche Verbindungen geben (wie Jod-, Brom-, Cyanwasserstoff), abwesend sind. — Auch Cyansäure, welche durch theilweise Umsetzung von Harnstoff zu Ammoncyanat in heisser wässriger Lösung entsteht, giebt ein in Wasser unlösliches, jedoch in Salpetersäure lösliches Silbersalz.

2. Fluorwasserstoff.

Die Flusssäure ist im Harn von Berzelius[1]) entdeckt und später öfter wieder aufgefunden worden, so von Nicklès[2]). Der Harn enthält Spuren davon.

Berzelius schlug einen reichlichen Antheil Harn mit Aetzammoniak nieder, sammelte und calcinirte den Niederschlag, vermischte eine Unze davon mit ebensoviel Schwefelsäure und erhitzte dann die Mischung mässig in einem Platintiegel, der mit einer zur Aetzung vorgerichteten Glasplatte bedeckt war. Nach einigen Stunden nahm er den Wachsüberzug hinweg und fand die Linien eingefressen durch flusssaure Dämpfe.

---

[1]) J. Berzelius, General Views of the composition of animal fluids. London 1812. p. 61; Ueberblick über die Zusammensetzung der thierischen Flüssigkeiten. Aus dem Englischen übersetzt von Schweigger. Nürnberg 1814. 8. 62.

[2]) Nicklès, Comptes rendus **43**. 885.

3. Schwefelsäure.

A. *Vorkommen.* Die Schwefelsäure kommt im Harn in zweierlei Form vor, nämlich als solche, wie sie in den gewöhnlichen schwefelsauren Salzen enthalten ist (Sulphatschwefelsäure) und als Aetherschwefelsäure, in Verbindung mit aromatischen Alkoholen, wie Phenol, Kresol, Indoxyl etc. Man pflegt die Sulphatschwefelsäure als A-, die in der Aetherschwefelsäure enthaltene als B-Schwefelsäure zu bezeichnen. An Gesammtschwefelsäure finden sich in der 24stündigen Harnmenge des Erwachsenen bei gemischter Kost 1,5—3 g SO_3, sie steigt und fällt mit der Menge der im Körper umgesetzten Eiweisssubstanz. Die Schwefelsäure der Aetherschwefelsäuren macht beim Menschen ungefähr 0,1 der Gesammtschwefelsäure aus; ihre Menge ist starken Schwankungen unterworfen und in hohem Grade abhängig von der Art der Nahrung, von der Stärke der Darmfäulniss und von der direkten Zufuhr solcher aromatischer Körper, welche sich im Organismus mit der Schwefelsäure zu Aetherschwefelsäure vereinigen können. Unter Fleischkost enthält der Hundeharn nach Adrian[1]) ungefähr zweimal soviel Kresolätherschwefelsäure als Indoxylschwefelsäure. Nach der Verabreichung von viel Indoxyl (Baumann und Brieger[2]), bei der Vergiftung mit Phenol etc. kann die Sulphatschwefelsäure ganz oder doch bis auf Spuren verschwinden.

Dass der Harn ausser der Sulphatschwefelsäure noch Schwefel in anderer Form enthält, war bereits Berzelius[3]) bekannt; er fällte Harn mit salpetersaurem Baryt aus, verdampfte das Filtrat zur Trockne, glühte den Rückstand nach Zusatz von salpetersaurem Baryt und fand in der Asche schwefelsauren Baryt auf. Denselben Nachweis führte später Reynolds[4]) selbstständig in fast gleicher Weise; nach seinen Bestimmungen macht der nicht als Sulphatschwefelsäure vorhandene Schwefel im Mittel 30 % des gesammten Schwefels aus.

Die Menge der im Harn erscheinenden Gesammtschwefelsäure hängt selbstverständlich ab von der Menge und der Art der verdauten schwefelhaltigen Nahrungsbestandtheile. Von dem mit der Nahrung aufgenommenen Schwefel erscheint nach Bugarszky[5]) beim Hund 52 %, bei der Katze 66 % als Schwefelsäure im Harn. — Nach den umfänglichen Untersuchungen von W. J. Smith[6]) wird unter den einfacheren schwefelhaltigen organischen Verbindungen nur der Schwefel der Thiosäuren (Carbaminthiosäure, Carbaminthioglykolsäure, nach Goldmann[7]) Cystin), und der Thioalkohole (Aethylmercaptan) im Organismus (des Hundes) zu Sulphatschwefelsäure oxydirt, der der Sulfonsäuren dagegen nicht. — Schwefligsaure Salze erscheinen nach innerlicher Verabreichung

---

1) C. Adrian, Ztschr. f. physiol. Ch. **19**. 134. 1894.

2) Baumann u. Brieger, Ztschr. f. physiol. Ch. **3**. 255. 1879.

3) Berzelius, General Views etc. p. 64; Ueberblick etc. p. 65. (Vergl. Citat S. 11.)

4) E. Reynolds, Philos. Magazine [3] **30**. 253; Journ. f. prakt. Ch. **41**. 185. 1847.

5) Bugarszky, Közlemenyek **1** 33. 1894; Jahresber. f. Thierch. 1894. 275.

6) William J. Smith, Pflüger's Archiv **53**. 481; **55**. 541; **57**. 418; Ztschr. f. physiol. Ch. **17**. 1 u. 459.

7) E. Goldmann, Ztschr. f. physiol. Ch. **9**. 271. 1885.

zum grössten Theil als Sulphate im Harn (Höppener, Pfeiffer[1]). — Metallischer Schwefel geht grösstentheils als Sulphatschwefelsäure in den Harn über (Krause[2]), der Rest als unoxydirter Schwefel. — Alle Zustände, welche mit einem erhöhten Zerfall von Körpereiweiss verbunden sind, führen zu vermehrter Ausscheidung von Schwefelsäure. Wenn übergrosse Muskelanstrengung die Stickstoffausscheidung steigert, erscheint auch, nach den übereinstimmenden Befunden von Beck und Benedict sowie von Munk[3]) mehr Schwefelsäure im Harn; bei darauf folgender Ruhe kann sich dieser Verlust wieder ausgleichen. Vermehrend wirken organisirtes Eiweiss tödtende Gifte (Benzoësäure, Salicylsäure nach Salkowski, Chloroformwasser nach Savelieff[4]). — Unterbindung des Gallengangs beim Hunde hat nach Kratkow[5]) Vermehrung der Sulphatschwefelsäure zur Folge.

Im Harn eines todtgeborenen 8—9 Monate alten Fötus vermisste Liebermann[6]) die Schwefelsäure. In einem Eiweissharn fand Vaudin[7]) keine löslichen Sulphate.

Das Auftreten der Aetherschwefelsäure hängt hauptsächlich und für gewöhnlich ab von der im Darm stattfindenden Eiweissfäulniss. Da die Fäulniss erregenden Mikroben erst nach der Geburt in den Darm gelangen, ist der Harn Neugeborner arm an Aetherschwefelsäure; Senator[8]) fand in 100 cc nur 0,55 bis 4,82 mg, im Mittel von 6 Bestimmungen 2,21 mg. Aeltere Kinder scheiden mehr Aetherschwefelsäure aus, wenn auch im Verhältniss zur Sulphatschwefelsäure nicht so viel wie Erwachsene (Haldane, Rovighi[9]).

Verfütterung von faulem Fleisch an Hunde steigert nach Mester[10]) die Aetherschwefelsäure im Verhältniss zur Sulphatschwefelsäure und absolut. — Nach vollständiger Entleerung des Darms durch Calomel (beim Hunde) verschwindet die Aetherschwefelsäure gänzlich aus dem Harn (Baumann, Morax[11]). — Anhaltende Nahrungsentziehung vermindert im Allgemeinen die Ausscheidnng der Aetherschwefelsäure (Fr. Müller[12]).

Aetherschwefelsäure findet sich nicht bloss bei Säugethieren vor, sondern auch bei Hühnern (Bongers) und beim Fisch (Scyllium catulus, nach Herter[13]).

Unter physiologischen Verhältnissen ist der Gehalt des Magensaftes an Salzsäure und die gleichbedeutende Zufuhr von Kochsalz von Wichtigkeit für die Bildung der Aetherschwefelsäure, Verabreichung von Salzsäure vermindert beim Menschen die Ausscheidung der Aetherschwefelsäure beträchtlich (Biernacki, Schmitz[14]), aber nicht beim Hunde (Schmitz); und umgekehrt führt eine länger dauernde Aufnahme von doppelt kohlensaurem Natron oder Kalkcarbonat

---

1) Höppener, Ueber die Zersetzung einiger Schwefelverbindungen im Organismus. Diss. Dorpat 1863. — L. Pfeiffer, Arch. f. exp. Path. **27**. 284. 1890.

2) A. Krause, De transitu sulfuris in uriram. Diss. Dorpat 1853.

3) C. Beck u. H. Benedict, Pflüger's Archiv **54**. 27. 1893. — I. Munk, Du Bois' Archiv 1895. 386.

4) N. Savelieff, Virchow's Archiv **136**. 195. 1894.

5) N. P. Kratkow, Centralbl. f. d. med. Wiss. 1892. 932.

6) Leo Liebermann, Jahresb. f. Thierch. 1888. 120.

7) L. Vaudin, Comptes rendus de la Soc. biol. 1893. 258.

8) H. Senator, Ztschr. f. physiol. Ch. **4**. 1. 1879.

9) Haldane, Journ. of Physiol. **9**. 213. 1889. — Rovighi, Ztschr. f. physiol. Ch. **16**. 31. 1891.

10) B. Mester, Ztschr. f. klin. Med. **24**. 441.

11) E. Baumann, Ztschr. f. physiol. Ch. **10**. 129. 1886. — V. Morax, daselbst 318.

12) Fr. Müller, Berliner klin. Wochenschr. 1887. 433; Virchow's Archiv **131**. Suppl. 128. 1893.

13) P. Bongers, Diss. Königsberg; Centralbl. f. d. med. Wiss. 1889. 238. — Herter, Mitth. aus d. zool. Station zu Neapel **10**. 341; Jahrb. f. Thierch. 1891. 309.

14) E. Biernacki, Arch. f. klin. Med. **40**. 87; Centralbl. f. d. med. Wiss. 50. 1890. — K. Schmitz, Ztschr. f. physiol. Ch. **19**. 401. 1894.

zu einer Vermehrung derselben (Kast, Stadelmann[1]). Als Mester einem Hunde das Kochsalz längere Zeit entzog, nahm er keine Steigerung der Aetherschwefelsäure wahr, aber Ziemke[2]) beobachtete bei Fütterung eines Hundes mit kochsalzfreier Nahrung eine nicht unbeträchtliche Vermehrung der Aetherschwefelsäure. Hiermit steht im Einklang, dass nach Mester bei Zufütterung von Kochsalz zu faulem Fleisch jede Darmfäulniss ausblieb.

In hervorragender Weise wirkt vermindernd auf die Ausscheidung der Aetherschwefelsäure der Genuss von Kefyr (Rovighi, Embden[3]) und von der Milch selbst (Pöhl, Biernacki, Winternitz, Matteoda[4]), Schmitz[5]) schreibt diese fäulnisshemmende Wirkung dem Caseïn, Winternitz dem Milchzucker zu.

Einen gleichfalls vermindernden Einfluss übt nach Röhmann sowie nach Krauss beim Hunde, nach Gottwald beim Pflanzenfresser vegetabilische Nahrung aus; beim Menschen tritt nach G. Hoppe-Seyler[6]) bei Zufuhr von Amylaceen eine beträchtliche absolute Verminderung ein, aber im Verhältniss zur Gesammtschwefelsäure keine.

Von Arzneimitteln, welche, nicht durch Entleerung des Darmes, sondern durch eine fäulnisswidrige Wirkung die Ausscheidung der Aetherschwefelsäure herabsetzen, hat sich beim Hunde nach Morax das Jodoform, nach Rovighi Terpentinöl und Kampher wirksam erwiesen. Alle anderen Mittel können, wenn sie Diarrhoe veranlassen, die Menge der Aetherschwefelsäure, wenigstens im Verhältniss zur Sulphatschwefelsäure, steigern.

Von pathologischen Zuständen bewirken acute Darmcatarrhe nach Gava[8]) eine Verminderung der Aetherschwefelsäure, chronische eine Vermehrung. Bei Koprostase ist bald keine Veränderung (G. Hoppe-Seyler[6]), bald Vermehrung (Pfungen[9]) beobachtet worden. Nach G. Hoppe-Seyler[6]) hat mangelhafte oder aufgehobene Resorption der Verdauungsproducte, wie sie bei Typhus, Peritonitis, Darmtuberkulose und anderen Krankheiten stattfindet, eine Vermehrung der Aetherschwefelsäure zur Folge, bei Typhus jedoch nur dann, wenn der Darminhalt stagnirt. Aber auch sonst erscheint nach Albertoni[10]) die Aetherschwefelsäure bei Typhus vermehrt, wenn man sie vergleicht mit der Ausscheidung bei ähnlicher spärlicher Nahrung. — Bei Cholera beobachtete G. Hoppe-Seyler[11]) eine Vermehrung der Aetherschwefelsäure, die sich während der reichlichen Diurese im Reactionsstadium verlor. In diesem Stadium fand Pouchet[12])

---

[1]) Kast, Ueber die quant. Bemessung der antiseptischen Leistungen des Magensafts. Festschr. Hamburg 1889. — Stadelmann, Ueber den Einfluss der Alkalien auf den menschlichen Stoffwechsel. Stuttgart 1890.

[2]) E. Ziemke, Ueber den Einfluss der Salzsäure des Magensafts auf die Fäulnissvorgänge im Darm. Diss. Halle 1893; Jahresb. f. Thierch. 1893. 270.

[3]) A. Rovighi, Ztschr. f. physiol. Ch. **16**. 43. 1891. — H. Embden, daselbst **18**. 323.

[4]) Pöhl, St. Petersburger med. Wochenschr. 50. 1887; Jahresb. f. Thierch. **17**. 277. — Biernacki, a. a. O. — H. Winternitz, Ztschr. f. physiol. Ch. **16**. 474. 1892. — Matteoda, Diss. Genève 1894; Jahresb. f. Thierch. 1894. 537.

[5]) Schmitz, Ztschr. f. physiol. Ch. **19**. 385. 1894.

[6]) F. Röhmann, Pflüger's Archiv **29**. 525. 1882. — E. Krauss, Ztschr. f. physiol. Ch. **18**. 167. 1893. — G. Gottwald, Journ. f. Landwirthschaft **36**. 325; Chem. Centralbl. 1889. **1**. 29. — G. Hoppe-Seyler, Ztschr. f. physiol. Ch. **12**. 16 u. 21. 1888.

[7]) Morax, Ztschr. f. physiol. Ch. **10** 318. 1886. — Rovighi, daselbst **16**. 31.

[8]) G. Gava, Ungar. Arch. f. Med. **1**. 288; Jahresb. f. Thierch. 1892. 309.

[9]) v. Pfungen, Ztschr. f. klin. Med. **21**. 118.

[10]) P. Albertoni, Ann. di Chim. e di Farmac. **18**. 396. 1893; Jahresb. f. Thierch. 1893. 622.

[11]) G. Hoppe-Seyler, Berliner klin. Wochenschr. 43. 1892.

[12]) A. G. Pouchet, Comptes rendus **100**. 362.

nur Spuren, oft auch gar keine Aetherschwefelsäure im Harn. — Eine sehr starke Darmfäulniss traf Stokvis[1]) in einem Fall von Perityphlitis und Peritonitis an. — Bei gewöhnlicher Lebercirrhose und maligner Neubildung ist nach Gonadse[2]) die Aetherschwefelsäure in Folge des begleitenden Darmkatarrhs vermehrt, bei hypertrophischer Cirrhose dagegen nicht.

Unterbindung des Gallengangs beim Hunde lässt die Menge der Aetherschwefelsäure unvermindert (Kratkow[3]).

Magenerkrankungen sind von keiner Vermehrung begleitet, selbst dann nicht, wenn die Ernährung darnieder liegt und sich gährende Massen in reichlicher Menge im Darm vorfinden. Fäulnissprocesse ausserhalb des Darmes gehen mit einer Vermehrung der Aetherschwefelsäure einher, sie nimmt zu mit dem Grade dieser Fäulniss und bei der Retention der faulenden Stoffe, ab hingegen nach der Entleerung derselben. Bei allen diesen Processen ist es für die Ausscheidung der Aetherschwefelsäure gleichgiltig, welcher Art das an die Schwefelsäure gebundene Fäulnissproduct ist.

B. *Eigenschaften.* 1. Die Schwefelsäure bildet neutrale Salze M_2SO_4 und unbeständige saure, $MHSO_4$; die sauren Salze der Pyroschwefelsäure $H_2S_2O_7$ sind dagegen beständiger. Die neutralen Sulphate der Alkalien und das der Magnesia sind leicht löslich; der schwefelsaure Kalk, $CaSO_4 + 2\,H_2O$, welcher in Prismen krystallisirt, löst sich schwer in Wasser (1 Theil in 400 Theilen bei gewöhnlicher Temperatur).

2. Chlorbaryum erzeugt in den Lösungen schwefelsaurer Salze einen weissen feinpulverigen, in Salzsäure, Salpetersäure, Essigsäure unlöslichen Niederschlag von schwefelsaurem Baryt. — Essigsaures Bleioxyd fällt schwefelsaures Bleioxyd.

3. Die Salze der im Harn vorkommenden Aetherschwefelsäuren geben beim Versetzen des Harns mit Chlorbaryum keinen Niederschlag. Bei der Digestion mit Mineralsäuren in der Wärme werden sie aber in gewöhnliche Schwefelsäure und den zugehörigen Alkohol zerlegt, dagegen nicht durch eine nicht zu lange dauernde (einstündige) Digestion mit verdünnter Essigsäure.

Nach Adrian[4]) zersetzt sich die Indoxyl- und Skatoxylschwefelsäure, und wohl auch die Aetherschwefelsäure der Oxyphenylessigsäure und Oxyphenylpropionsäure schon, wenn man den mit Salzsäure versetzten Harn 24 Stunden in der Kälte stehen lässt, die Kresol- (Phenol-) Aetherschwefelsäure erst auf dem Wasserbade. Die leicht zersetzbare Aetherschwefelsäure bezeichnet Adrian mit B′, die schwer zersetzbare mit B″.

C. *Nachweis.* Für den Nachweis der gewöhnlichen (Sulphat-) Schwefelsäure versetzt man den Harn mit Essigsäure bis zur stark sauren Reaction und fügt Chlorbaryum hinzu; nicht oder nicht genügend angesäuerter Harn giebt auch einen Niederschlag von phosphorsaurem Baryt. Entsteht bei diesem Verfahren ein feinpulveriger weisser Niederschlag, so kann er auf die Gegenwart von gewöhnlicher Schwefelsäure bezogen werden.

1) B. J. Stokvis, Nederl. Tijdschr. voor Geneesk. 1889. 2. 409.
2) J. Gonadse, Petersb. med. Wochenschr. 1894; Jahresb. f. Thierch. 1894. 639.
3) N. P. Kratkow, Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1892. 932.
4) C. Adrian, Ztschr. f. physiol. Ch. 19. 126 u. 134. 1894.

Dem Niederschlag kann aber auch ausser phosphorsaurem oxalsaurer Baryt und wenigstens bei längerem Stehen Harnsäure beigemischt sein; um diese Barytsalze nicht mit schwefelsaurem Baryt zu verwechseln, genügt es, den von der Flüssigkeit getrennten Niederschlag mit verdünnter Salzsäure zu erwärmen, wobei Phosphat und Oxalat in Lösung gehen, das Sulphat aber zurückbleibt. Auch kann man den Harn statt mit Essigsäure sogleich mit Salzsäure versetzen, darf ihn aber dann nicht lang stehen lassen.

Die Schwefelsäure der Aetherschwefelsäuren weist man nach, indem man den mit Essigsäure angesäuerten Harn mit Chlorbaryum ausfällt und das Filtrat nach Zusatz von Salzsäure erwärmt; bei Gegenwart von Aetherschwefelsäure entsteht jetzt ein zweiter Niederschlag von schwefelsaurem Baryt. Die Unterscheidung der leicht und der schwer zersetzbaren Aetherschwefelsäuren geschieht nach B. 3. Für den Nachweis der Aetherschwefelsäure soll man nicht unter 25 cc Harn verwenden.

4. Der »neutrale« Schwefel.

Syn. Nicht oxydirter, unvollständig oxydirter, organischer Schwefel.

Ausser den beiden Schwefelsäuren enthält der Harn noch andere, nur zum Theil bekannte schwefelhaltige Substanzen. Salkowski[1]) hat ihre Gesammtheit als neutralen Schwefel bezeichnet. Dahin gehören die unterschweflige Säure, der Rhodanwasserstoff, Abkömmlinge des Taurins und des Cystins. Auf den Rhodanwasserstoff entfällt im günstigsten Falle nur etwa $^1/_3$ des gesammten nicht als Schwefelsäure vorhandenen Schwefels, auf den im normalen Harn enthaltenen cystinähnlichen Körper nach Goldmann und Baumann[2]) nur ein nicht erheblicher Theil.

Nach Lépine[3]) lässt sich ein Theil dieser Substanzen als leichter oxydirbar schon mit Chlor oder Brom in Schwefelsäure überführen, während der andere Theil, der schwerer oxydirbare, wie das Taurin selbst, dazu mit Salpeter (und Kalihydrat oder Soda) geschmolzen werden muss; selbstverständlich lassen sich auch die leichter oxydirbaren durch Schmelzen mit Salpeter in Schwefelsäure verwandeln (vergl. auch die quantitative Bestimmung).

W. Smith[4]) vermuthet, dass der am schwersten oxydirbare Schwefel Sulfonen oder Sulfonsäuren angehören könnte. Zu den schwer oxydirbaren Verbindungen gehört nach Stadthagen auch das Cystin.

Die Menge des neutralen Schwefels ist vor Allem abhängig von der Menge und der Art der im Körper zerfallenden Eiweisssubstanz.

Beim Menschen fand Salkowski in der 24stündigen Harnmenge bis 16,3 % des gesammten Schwefels in nicht vollständig oxydirter Form vor, Stadthagen 14 % (davon ungefähr $^1/_5$ als leicht oxydirbaren), Lépine 20 % (davon

[1]) Salkowski, Virchow's Archiv 58. 172. 1873.

[2]) E. Goldmann und E. Baumann, Ztschr. f. physiol. Ch. 12. 257. 1888.

[3]) Lépine (und Flavard sowie Guérin), Revue de méd. 1. 27. 910 u. 1001; Comptes rendus 91. 1074. 1880; 97. 1074. 1883; Communications faites à la Soc. des sc. méd. de Lyon, 1883.

[4]) William J. Smith, Ztschr. f. physiol. Ch. 17. 459. 1893.

10—12 % oder auf 100 Stickstoff 0,8—1,6 schwer oxydirbaren), B. Mester 18,1 %, Beck und Benedict 16,6 %, Munk 25,5 %, Hefftor bei zwei verschiedenen Personen

	bei gemischter Kost	Fleisch	Brod	Milch
A.	24,3 %	25,4 %	33,1 %	23,8 %
B.	26,9 „	16,1 „	33,1 „	17,0 „

Nach mehrtägigem Hunger fand F. Müller[1]) beim Menschen den neutralen Schwefel absolut und relativ vermehrt.

Nach den Bestimmungen von Voit, Kunkel, Lépine, Goldmann, Heffter, Ken-Taniguti, Rudenko, Jerome[2]) macht beim Hunde unter gewöhnlichen Verhältnissen der unvollständig oxydirte Schwefel 17—46 % des Gesammtschwefels aus. Fütterung mit Brod steigert nach Voit und nach Heffter auch beim Hunde den neutralen Schwefel erheblich. Im Hunger sah Jerome den neutralen Schwefel auf 71,9 % steigen.

Beim Hammel fand Weiske[3]) 11 % (Heu) und 14 % (Heu und Bohnen), Salkowski bei Kaninchen 21 % (Erdäpfel), beim Pferd 24,6 %, Herter[4]) beim Hundshai 33,6 %.

Nach angestrengter Muskelthätigkeit steigt der neutrale Schwefel gegen den in der Ruhe abgeschiedenen nach Beobachtungen von Beck und Benedict, sowie von Munk um 12—17 %, das Verhältniss zum Gesammtschwefel bleibt aber unverändert (Munk). Auch Sauerstoffmangel erhöht die Ausscheidung des neutralen Schwefels in der Weise, dass aller aus dem Eiweiss stammende Schwefel als solcher auftritt (Reale und Boeri[5]).

Die Menge des neutralen Schwefels nimmt zu unter dem Einfluss länger dauernder Chloroformnarkose (Kast und Mester), nach der Einverleibung von Chloroformwasser (Rudenko, Savelieff), nach dem Gebrauch von Amylenhydrat und von Chloralhydrat (Harnack und Remertz), sowie dem von doppeltkohlensaurem und citronensaurem Natron (Jawein[6]).

Nach dem Gebrauch von Schwefelblumen geht ein Theil des resorbirten Schwefels als neutraler Schwefel in den Harn über, beim Menschen wie beim Hunde (Regensburger, Salkowski, Presch[7]), ein Theil dieses Schwefels ist nach Presch durch Salpetersäure oxydirbar und könnte nach Presch anorganischer Natur

---

[1]) Salkowski a. a. O. und Ztschr. f. physiol. Ch. **9**. 241. 1885. — Stadthagen, Virchow's Archiv **100**. 426. 1885. — A. Heffter, Pflüger's Archiv **38**. 476. 1886. — B. Mester, Ztschr. f. physiol. Ch. **14**. 136. 1889. — C. Beck und H. Benedict, Pflüger's Archiv **54**. 27. 1893. — I. Munk, Du Bois' Archiv 1895. 386. — Fr. Müller, Berliner klin. Wochenschr. 1887. 433.

[2]) C. Voit: Bischoff und Voit, Die Gesetze der Ernährung des Fleischfressers 1860. 284; Festschrift zur Feier des 300jähr. Bestehens der Universität zu Würzburg, 1882; Ztschr. f. Biol. **30**. 523. 1894. — Kunkel, Pflüger's Archiv **14**. 344. 1877. — E. Goldmann, Ztschr. f. physiol. Ch. **9**. 260. 1885. — Ken-Taniguti, Virchow's Archiv **117**. 581. 1889. — Rudenko, daselbst **125**. 105 u. 110. 1891. — W. J. S. Jerome, Pflüger's Archiv **60**. 233. 1895.

[3]) Weiske, Ztschr. f. Biol. **17**. 279. 1881.

[4]) E. Herter, Mittheilungen aus der zoolog. Station zu Neapel **10**. 341; Jahresb. f. Thierch. 1891. 309.

[5]) Reale und Boeri, Wiener med. Wochenschr. 1895. 1064; Rivista clin. e terap. Mai 1894; Jahresb. f. Thierch. 1894. 465.

[6]) A. Kast und B. Mester, Ztschr. f. klin. Med. **18**. 469. 1891. — Rudenko, a. a. O. — N. Savelieff, Virchow's Archiv **136**. 195. 1894. — E. Harnack und J. Remertz, Fortschritte d. Med. **11**. 265. 1893. — G. Jawein, Ztschr. f. klin. Med. **22**. 43. 1893.

[7]) Regensburger, Ztschr. f. Biol. **12**. 479. 1876. — Salkowski, Berliner klin. Wochenschr. 36. 1888. — W. Presch, Virchow's Archiv **119**. 159. 1890.

(Polythionsäuren) sein. Sulfonal erscheint als eine leicht lösliche sehr beständige Schwefelverbindung, wahrscheinlich Aethylsulfonsäure, im Harn wieder (Baumann). Vermehrt ist der organische Schwefel nach der Inhalation von Methylmerkaptan (Rekowski) und nach der Einverleibung von Aethylsulfid (Jerome[1]).

Hunde mit Gallenfisteln liefern weniger neutralen Schwefel als normale Hunde (20% gegen 30 und 36% nach Kunkel); macht man dagegen Hunde icterisch, so nimmt der unvollständig oxydirte Schwefel zu (bis zu 64% nach Lépine), in Uebereinstimmung mit der Thatsache, dass die Verabreichung von Taurin die Ausscheidung des neutralen Schwefels (Taurocarbaminsäure) steigert. Im Icterus aus verschiedenen Ursachen beim Menschen bestimmte Lépine 24—62% neutralen Schwefel und 4—5 mal soviel schwer oxydirbaren als in der Norm. Auch bei anderen Krankheiten, namentlich bei Pneumonie (ohne Icterus) kann der neutrale (mit dem schwer oxydirbaren) Schwefel vermehrt sein. Die Vermehrung betrifft bei der Pneumonie namentlich den leichter oxydirbaren, bei Leberleiden den schwerer oxydirbaren Antheil. Die Ableitung der Galle nach aussen scheint jedoch bei Hunden nur einen geringen Einfluss auf die Verminderung des schwer oxydirbaren Schwefels zu haben.

In einem Falle von Cystinurie fand Stadthagen begreiflicher Weise mehr nicht oxydirten Schwefel als im normalen Harn, nämlich 22,4% des Gesammtschwefels, davon ungefähr $^3/_7$ als leicht oxydirbaren, in einem anderen Fall Mester[2]) im Mittel 45,7%, wobei die Ernährungsweise kaum von Einfluss auf die Grösse der Ausscheidung war. Unter der Zufuhr von Cystin nimmt nach Goldmann die Menge des nicht oxydirten Schwefels zugleich mit dem oxydirten zu; Chlorbenzol bewirkt wegen der Bildung von Chlorphenylmerkaptursäure eine starke Zunahme des nicht oxydirten Schwefels neben einer Verminderung des oxydirten.

Nachweis. Man fällt zunächst die Gesammtschwefelsäure durch Salzsäure und Chlorbaryum im heissen Harn, entfernt darauf den überschüssigen Baryt durch kohlensaures Natron, dampft ein, schmilzt den Rückstand unter Zusatz von Salpeter und versetzt die angesäuerte Lösung der Schmelze mit Chlorbaryum; ein entstehender Niederschlag zeigt die neu gebildete Schwefelsäure an. Zum Aufsuchen des leicht oxydirbaren Antheils behandelt man den von präformirter Schwefelsäure und überschüssigem Baryt befreiten Harn nach dem Ansäuren mit Brom und prüft auf die gebildete Schwefelsäure durch Zusatz von Chlorbaryum. Man kann auch mit chlorsaurem Kali und Salzsäure oxydiren; aber Lépine zieht die Anwendung des Broms vor, weil durch das Chlor auch ein Theil des Taurinabkömmlings zu Schwefelsäure oxydirt werden könnte. Auch rauchende Salpetersäure oxydirt nach Presch[3]) im Abdampfungsrückstand des von Schwefelsäure befreiten Harns bei Weitem nicht allen Schwefel.

Zu beachten ist, dass sich nach Stadthagen vom Schwefel des Cystins nur 30—40% durch chlorsaures Kali und Salzsäure zu Schwefelsäure oxydiren lassen. Unter Umständen kann auch bleischwärzender Schwefel im Harn erscheinen, wie nach Kast und Mester nach der Chloroformnarkose.

---

1) E. Baumann, Therap. Monatshefte, November 1888; Jahresb. f. Thierch. 1889. 54. — L. de Rekowski, Arch. des sc. biol. 2. 205. 1893. — Jerome, Pflüger's Archiv 60. 233. 1895.

2) B. Mester, Ztschr. f. physiol. Ch 14. 120. 1889.

3) W. Presch, Virchow's Archiv 119. 163. 1890.

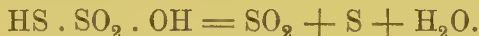
5. Unterschweflige Säure.

Syn. Thioschwefelsäure.

A. *Vorkommen.* Unterschwefligsaure Salze finden sich im Harn der Katzen constant und der Hunde in der Regel (Schmiedeberg, Meissner[1]). Im Harn des Menschen ist die Säure von Strümpell[2]) in einem Fall von Typhus angetroffen worden. Der normale Menschenharn enthält nach den Untersuchungen von Salkowski und von Presch[3]) keine Thioschwefelsäure (wenigstens nicht 10 mg im Liter).

Der Schwefelwasserstoff, welcher sich nach Sertoli und nach Munk durch Mineralsäure in der Wärme aus jedem Harn entwickelt, braucht nicht aus Thioschwefelsäure zu stammen. Nach dem innerlichen Gebrauch von Schwefelblumen enthält der Harn keine unterschweflige Säure (Salkowski, Presch). — Bugarszky[4]) hat aus Katzenharn auf Zusatz von Säure, in einem einzigen Versuch, gerade so viel schweflige Säure erhalten als Schwefel und ist daher der Meinung, dass der Harn nicht unterschweflige Säure, sondern Tetrathionsäure enthalte.

B. *Eigenschaften.* 1. Bei dem Versuch, die unterschweflige Säure aus einem ihrer Salze durch eine andere Säure zu isoliren, zerfällt sie sofort unter Abscheidung von Schwefel und Entwicklung von schwefliger Säure:



$$HS . SO_2 . OH = SO_2 + S + H_2O.$$

Beim Kochen der Flüssigkeit verflüchtigt sich neben der schwefligen Säure mit dem Wasserdampf auch ein mehr oder minder grosser Theil des Schwefels.

Thiosulphat entwickelt nach Presch[5]) beim Kochen mit Salzsäure auch etwas Schwefelwasserstoff, aber nur in Lösungen mit weniger als 1 % krystallisirtem Natriumsalz.

2. Die Säure ist zweibasisch. Ihre Alkalisalze sind leicht löslich und beständig. Das krystallisirte Natriumsalz besitzt die Zusammensetzung $Na_2S_2O_3$, 5 H_2O. Das Kalk- und das Strontiansalz sind leicht löslich, aber unbeständig. — Das Barytsalz ist schwer löslich, beständig und krystallisirt in Nadeln oder Plättchen. — Das Bleisalz löst sich gleichfalls schwer und schwärzt sich schon unter 100° unter Bildung von Schwefelblei. — Versetzt man eine Lösung von unterschwefligsaurem Salz mit salpetersaurem Silber, so entsteht ein weisser

---

1) Schmiedeberg, Archiv d. Heilk. **8**. 422. 1867. — G. Meissner, Ztschr. f. rat. Med. [3] **31**. 322. 1868.

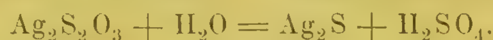
2) A. Strümpell, Archiv d. Heilk. **17**. 390. 1876.

3) Salkowski, Pflüger's Archiv **39**. 221. 1886. — W. Presch, Virchow's Archiv **119**. 156.

4) Sertoli, Gaz. med. ital. lomb. [6] **2**. 197. 1869. — I. Munk, Virchow's Archiv **69**. 354. 1877. — Salkowski, Berliner klin. Wochenschr. 36. 1888. — Presch, a. a. O. 161. — St. Bugarszky, Közlemények **1**. 33. 1894; Jahresb. f. Thierch. 1894. 275.

5) Presch, a. a. O. 150.

Niederschlag, der aber alsbald gelb, braun und endlich schwarz wird: das Silbersalz zersetzt sich dabei zu Schwefelsilber und Schwefelsäure:



$$Ag_2S_2O_3 + H_2O = Ag_2S + H_2SO_4.$$

C. *Darstellung.* Meissner[1]) fällt den Harn mit überschüssigem Barytwasser, dampft das Filtrat ein, filtrirt den kohlensauren Baryt ab, der sich gebildet hat, fällt mit Alkohol und kocht den dicken weissen Niederschlag mit Wasser aus. Aus dem eingedampften Filtrat krystallisirt unterschwefligsaurer Baryt aus. Durch Digestion mit verdünntem kohlensauren Natron lässt sich dieser in das Natronsalz überführen. — Ein anderes Verfahren ist von Schmiedeberg[2]) angegeben worden.

D. *Nachweis.* 1. Nach Salkowski[3]) soll man 100 cc Harn mit 10 cc Salzsäure von 1,12 Dichte im Destillationsapparat auf $^1/_3$—$^1/_4$ einkochen. Bei Gegenwart von unterschwefliger Säure setzt sich im oberen Theile des Kühlrohrs ein schmaler bläulich- oder gelblich-weisser Beschlag von Schwefel ab und wenn viel von der Säure vorhanden ist, geht auch Schwefel als staubiges Pulver mit in das Destillat. Der Schwefelanflug bildet sich noch, wenn der Harn nur 0,1 g unterschweflige Säure, nach Presch[4]) 0,5 g krystallisirtes Natriumsalz im Liter enthält. In das Destillat geht die schweflige Säure über; man weist sie nach Salkowski am Besten nach, wenn man sie durch Zink und Salzsäure zu Schwefelwasserstoff reducirt, der, trotz der Gegenwart von schwefliger Säure, wahrgenommen werden kann.

Man hat sich dabei aber zu versichern, dass das vorher mit verdünnter Salzsäure gewaschene Zink nicht für sich Schwefelwasserstoff entwickelt und dass das Destillat nicht schon Schwefelwasserstoff enthält, der vom Rhodanwasserstoff des Harns herrühren kann. Die Bestimmung der schwefligen Säure mit Permanganat liefert zu hohe Werthe für die unterschweflige Säure, weil auch der im Destillat enthaltene Schwefel oxydirt wird.

Die von Salkowski empfohlene Verarbeitung des Alkoholextracts des Harns liefert nach Presch keine besseren Resultate, als die Untersuchung des Harns selbst. Dagegen wird nach Presch das Verfahren empfindlicher, wenn man den Harn mit Bleiessig ausfällt und den Niederschlag ohne Weiteres nach reichlichem Zusatz von Salzsäure der Destillation unterwirft. Es lassen sich dann noch 50 mg Natriumsalz im Liter Harn nachweisen. Der Bleiniederschlag ist vor Schwefelwasserstoff zu schützen, weil selbst geringe Mengen Schwefelblei auch einen Schwefelanflug geben.

Um den Anflug sicher als Schwefel erkennen zu können, soll man ihn nach Presch in Benzol aufnehmen und die Lösung verdunsten lassen. Es kann dann Schwefel makroskopisch erkenntlich auskrystallisiren. Ist der Rückstand amorph, so sublimirt man ihn vorsichtig (zwischen Uhrgläsern bei 60°). Der Nachweis von Schwefel im Anflug durch Oxydation mit Salpetersäure zu Schwefelsäure oder durch Ueberführen mittelst Natronlauge in Schwefelnatrium gelingt nur bei grösseren Mengen.

Das Verfahren ist insofern nicht ganz verlässlich, als normaler Harn, in welchem nach anderen Methoden kein Thiosulphat nachzuweisen ist, nach Presch[5]) zwar keinen Schwefelanflug, aber ein Destillat mit Spuren schwefliger Säure und Schwefelwasserstoff liefert.

---

1) Meissner, a. a. O.
2) Schmiedeberg, a. a. O.
3) Salkowski, Pflüger's Archiv 39. 213.
4) Presch, a. a. O. 152.
5) Presch, a. a. O. 155.

2. Ein von Presch[1]) angegebenes Verfahren beruht auf der Zersetzung des Silberthiosulphats zu Schwefelsäure. Es gestattet noch den Nachweis von 40 mg krystallisirtem Natriumsalz im Liter Harn.

Der Harn (100 cc oder mehr) wird mit Baryumhydrat stark alkalisch gemacht und mit Baryumnitrat ausgefällt, das Filtrat dann mit Ammoncarbonat vollständig vom Baryt befreit, die wiederum filtrirte Flüssigkeit mit Salpetersäure neutralisirt und nach Zusatz von Silbernitrat in mässigem Ueberschuss gelinde erwärmt. Man engt das Filtrat stark ein und versetzt es mit Chlorbaryum (besser mit salpetersaurem Baryt), worauf, wenn Thiosulphat zugegen war, schwefelsaurer Baryt ausfällt, welcher, bei gleichzeitiger Gegenwart von Chlorsilber von diesem durch Ammoniak, von mitausgefallenen anderen Barytsalzen durch Waschen mit Wasser befreit wird.

3) Harnack und Remertz[2]) sind für die quantitative Bestimmung der unterschwefligen Säure im Hundeharn so vorgegangen, dass sie den Harn mit Essigsäure ansäuerten und nach Zusatz von Chlorbaryum 24 Stunden in der Wärme stehen liessen. Der Niederschlag enthält die Sulfatschwefelsäure und die aus der Thioschwefelsäure entstandene schweflige Säure als Barytsalze. Zum Nachweis wenigstens kleiner Mengen Thioschwefelsäure ist dieses Verfahren nicht geeignet.

6. Schwefelwasserstoff.

A. *Vorkommen.* Wiewohl jeder Harn beim Behandeln mit Mineralsäure Schwefelwasserstoff entwickelt (S. 19), so findet er sich fertig gebildet doch nur selten im frischen Harn. Er tritt nach F. Müller nicht im Harn auf bei Krankheiten, die mit Fäulnissprocessen verbunden sind, auch nicht nach der Einverleibung von Schwefelalkalien oder bei dem Gebrauch von Schwefelbädern. Möglich ist ein direkter Uebergang des Schwefelwasserstoffs durch eine Fistel aus dem Darm (Rectum) in die Blase. Ob er auch durch Diffusion aus der Umgebung der Harnblase in diese gelangen könne, ist zweifelhaft und nicht erwiesen. Dagegen kann sich Schwefelwasserstoff in Folge einer eigenthümlichen Gährung schon innerhalb der Blase bilden (J. Ranke, Fr. Müller, Rosenheim, Gutzmann, L. Zoja, v. Jaksch[3]) und die Entwicklung von Schwefelwasserstoff in zersetztem Harn ausserhalb der Blase ist, wie Härtling[4]) gezeigt hat, ein gewöhnliches Ereigniss. Der Harn bleibt dabei anfangs sauer. Solche Gährungserreger sind nach Gestalt und Lebensweise verschiedener Art.

F. Müller hat aus schwefelwasserstoffbildendem Harn zwei Coccen, einen ovalen und einen etwas grösseren vollständig runden Coccus gezüchtet, die beide Harn

---

[1]) Presch, a. a. O. 154.

[2]) E. Harnack u. J. Remertz, Fortschritte der Med. **11**. 265; Jahresb. f. Thierch. 1893. 468.

[3]) Joh. Ranke, Grundzüge der Physiologie 1868. 431. — Fr. Müller, Berliner klin. Wochenschr. 1887. 405 u. 436. — Th. Rosenheim, Fortschritte d. Med. **5**. 345. 1887. — Rosenheim und H. Gutzmann, Deutsche med. Wochenschr. 10. 1888. — L. Zoja, Archivio ital. di clinica med. Anno **32**. 30. 1893. — v. Jaksch, Klinische Diagnostik 4. Aufl. 1896. 458.

[4]) R. Härtling, Ueber das Vorkommen von Schwefelwasserstoff im Harn. Diss. Berlin 1886.

in Schwefelwasserstoffgährung versetzen, sich aber nicht in jedem faulenden Harn vorfinden. Indican- und phenolreiche Harne setzen der Gährung Widerstand entgegen. Sie findet nach Müller statt in eiweissfreien Harnen sowie, was Salkowski bestätigt, in solchen, aus welchen die gesammte Schwefelsäure ausgefällt ist, so dass man vermuthen könnte, der Schwefelwasserstoff bilde sich aus dem nicht vollständig oxydirten Schwefel. — Das von Rosenheim und Gutzmann bei Hydrothionurie aus Menschenharn isolirte Bakterium rief dagegen im Harn, aus welchem die Schwefelsäure ausgefällt war, keine Schwefelwasserstoffgährung hervor, aber auch in Nährlösungen mit Sulphaten nicht; auch der Rhodanwasserstoff konnte nicht als Quelle des Schwefelwasserstoffs angesehen werden. — Als Erreger der Schwefelwasserstoffgährung erkannte in seiner Beobachtung Karplus[1]) ein den Typhusbacillen in Form und Grösse vollkommen gleiches lebhaft bewegliches Bakterium. Dieses facultativ anaërobe Bakterium, welches auch manchmal in sterilem Harn keinen Schwefelwasserstoff bildet, erzeugt aus Eiweiss, Sulphaten, Aetherschwefelsäure und Rhodanverbindungen keinen Schwefelwasserstoff, aber aus unterschwefligsauren Salzen und aus dem neutralen Schwefel. Der Harn bleibt bei dieser Gährung vollständig sauer. — In einem unter schwacher Schwefelwasserstoffentwicklung faulenden Hundeharn fand Goldmann[2]) nach fünfwöchentlicher Fäulniss die Menge des unoxydirten Schwefels völlig unverändert, die Gesammtschwefelsäure dagegen vermindert. — Holeschewnikoff[3]) hat zwei Bakterien beschrieben, die in Eiweisslösungen Fäulniss unter Schwefelwasserstoffbildung hervorrufen, und von denen das eine (Bacterium sulfureum) auch im Harn Schwefelwasserstoff bildet; es ist von dem von Karplus beobachteten verschieden. — Die von v. Jaksch aufgefundene Mikrobe war ein Diplococcus, der sich nach Gram nicht färbte.

B. *Nachweis.* Dem Harn zugesetzter Schwefelwasserstoff verschwindet bald aus dem Harn durch Oxydation desselben zu Wasser und Schwefel, während Harn, welcher die Quelle des Schwefelwasserstoffes in sich selbst hat, ihn längere Zeit hindurch enthält. Will man aus dem Körper stammenden Schwefelwasserstoff im Harn nachweisen, so muss man ihn daher frisch untersuchen.

Ausser durch seinen Geruch ist der Schwefelwasserstoff daran zu erkennen, dass er essigsaures Blei schwärzt. Man füllt etwas von dem sauren Harn in ein Kölbchen und klemmt in einen Kork, welcher in das Fläschchen passt, einen mit Bleizuckerlösung und darauf mit einem Tropfen Natronlauge benetzten Streifen Fliesspapier. Der Kork wird dann in den trocken gewischten Hals des Kölbchens so eingesetzt, dass der Streifen die Wand des Halses nicht berührt. Spuren Schwefelwasserstoff lassen sich noch nachweisen, wenn man den Harn in einen Kolben füllt und durch die Flüssigkeit (mittelst eines Aspirators oder einer Filtrirpumpe) Luft saugt, die vorher durch Kalilauge gewaschen wird. Die ausströmende Luft lässt man über ein, wie beschrieben hergerichtetes, Bleipapier streichen.

F. Müller sowie Boneko[4]) haben die Caro-Fischer'sche Methylenblaureaction für diesen Zweck in Vorschlag gebracht. Versetzt man wenig Schwefelwasserstoff enthaltendes Wasser mit $^1/_{50}$stel Vol. conc. Salzsäure, dann mit einigen Körnchen schwefelsauren Paraamido-Dimethylanilins und wenn sich diese gelöst haben, noch mit 1—2 Tropfen verdünntem Eisenchlorid, so färbt sich die Flüssigkeit nach einiger Zeit rein blau. Nach Müller überschichtet man am Besten das Reagens mit dem Harn, an der Grenze entsteht dann, oft erst nach einigen Minuten, ein blauer Ring; das Methylenblau lässt sich mit Amylalkohol ausschütteln. Nimmt man Paraphenylendiamin statt der Dimethylverbindung, so entsteht Lauth's Violett, welches dem alkalischen Harn durch Aether entzogen werden kann.

---

1) J. P. Karplus, Virchow's Archiv **131**. 210. 1893.
2) E. Goldmann, Zeitschr. f. physiol. Ch. **9**. 260. 1885.
3) Holeschewnikoff, Fortschritte der Med. 6. 1889.
4) Boneko, Chem. Centralbl. 1888. 115.

7. Phosphorsäure.

A. *Vorkommen.* Im Harn der Menschen und der Fleischfresser findet sich stets Phosphorsäure, im normalen Harn der Pflanzenfresser dagegen oft nur in Spuren, nämlich dann, wenn bei kalk-, oder magnesiareichem Futter von den nur schwer löslichen Phosphaten nur wenig resorbirt wird; mit Milch genährte Pflanzenfresser scheiden dagegen viel Phosphorsäure aus. Ihre schwer löslichen oder unlöslichen Salze bilden einen häufigen Bestandtheil der Harnsteine (Phosphatsteine). Auch enthält der Harn sehr geringe Mengen an organische Substanz gebundene Phosphorsäure.

Im 24stündigen Harn des Erwachsenen sind um 3,5 g P_2O_5 enthalten; die Menge ist wesentlich abhängig von Art und Menge der Nahrung (Schetelig[1]), namentlich aber von der Zersetzung nucleinhaltigen Gewebes im Körper (Gumlich, Weintraud, Roos[2]). Angestrengte Muskelthätigkeit erhöht gleichfalls die Ausscheidung der Phosphorsäure (Mosler, G. J. Lehmann, Klug u. Olsavszky, Beck u. Benedict, Munk[3]). Nach Ott[4]) kommen von der gesammten Phosphorsäure im 24stündigen sauren Harn im Mittel ungefähr 0,6 auf das zweifach und 0,4 auf das einfach saure Phosphat.

Bei anhaltender Nahrungsentziehung sinkt nach Munk[5]) die Phosphorsäuremenge nur wenig, es wird im Verhältniss zum Stickstoff mehr Phosphorsäure ausgeschieden, als im Eiweiss der zerfallenden Gewebe enthalten ist. — Entsprechend dem Zerfall des nucleinreichen Gewebes kommt bei der Phosphorvergiftung viel mehr Phosphorsäure im Harn zum Vorschein (Storch, Bauer, Cazeneuve, Münzer[6]).

Lieblein[7]) fand in Uebereinstimmung mit Ott, dass von der gesammten Phosphorsäure des Harns 57,2 % auf das zweifach saure Phosphat entfallen; dieser Antheil der Phosphorsäure schwankte zwischen 34,9 und 74,2 %. Nur bei einem Gehalt von 34,9 % der Phosphorsäure im zweifach sauren Phosphat reagirte der Harn amphoter, in allen andern Fällen sauer.

B. *Eigenschaften.* Die Phosphorsäure H_3PO_4 bildet viererlei Salze: zweifach saure MH_2PO_4, einfach saure M_2HPO_4, normale M_3PO_4 und basische Salze (mit mehr Basis als im normalen Phosphat);

---

1) Schetelig, Virchow's Archiv **82**. 437. 1880.

2) Gumlich, Ztschr. f. physiol. Ch. **18**. 508. 1893. — Weintraud, Du Bois' Archiv 1895. 382; Berliner klin. Wochenschr. 19. 1895. 405. — E. Roos, Ztschr. f. physiol. Ch. **21**. 19. 1895.

3) Mosler, Beiträge zur Kenntniss der Urinabscheidung. Diss. Giessen 1853.— G. J. Lehmann, Archiv f. Anat. u. Physiol. 1871. 14. — F. Klug u. V. Olsavszky, Pflüger's Archiv **54**. 21. 1893; C. Beck u. H. Benedict, daselbst **54**. 27. — I. Munk, Du Bois' Archiv 1895. 386.

4) Ad. Ott, Ztschr. f. physiol. Ch. **10**. 1. 1886.

5) I. Munk, Virchow's Archiv **131**. Suppl. 158.

6) O. Storch, Archiv f. klin. Med. **2**. 264. 1867. — J. Bauer, Ztschr. f. Biologie **7**. 63. 1871. — P. Cazeneuve, Comptes rendus **89**. 990. 1879. — E. Münzer, Archiv f. klin. Med. **52**. 199. 1894.

7) V. Lieblein, Ztschr. f. physiol. Ch. **20**. 79. 1894.

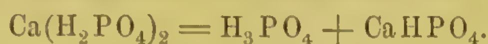
solche basische Salze sind nur von den alkalischen Erden bekannt, weil diese unlöslich sind. Filhol und Senderens[1]) haben von den Alkalien auch Sesquiphosphate $M_3H_3(PO_4)_2$, entsprechend dem Doppelsalz $MH_2PO_4 + M_2HPO_4$ dargestellt.

Man nannte die drei erstangeführten Salze und nennt sie zum Theil noch nach Berzelius saure, neutrale und basische; die oben erwähnten basischen Salze müssten dann überbasische heissen. Man benennt sie auch nach der Anzahl Atome Metall, welche die Salze enthalten, Mono-, Di-, Tri- (Natrium-, Calcium- etc.) Phosphat, in Abkürzung des richtigeren Ausdruckes: Mono- (Natrium- etc.) Dihydriumphosphat, oder primäres, secundäres, tertiäres Phosphat.

Berzelius[2]) analysirte ein Barytsalz, welches er erhielt, als er eine gegen Lackmus „beinahe unmerklich" sauer reagirende Ammonphosphatlösung mit Chlorbaryum fällte und fand dasselbe nach dem Glühen ganz genau aus $2 BaO P_2O_5$ zusammengesetzt. Da er ausser diesem Salz noch ein anderes mit nur halb soviel BaO analysirt hatte, so betrachtete er das säurereichere folgerichtig als das saure, das andere als das „neutrale" (normale) Salz. Daher, und nicht von dem Verhalten gegen Lackmus, wie häufig angegeben wird, rührt die Bezeichnungsweise. Die dreibasische Natur der Phosphorsäure wurde später von Graham[3]) entdeckt und die jetzt als normale bezeichneten Phophate wurden damals basische genannt.

a. Die zweifach sauren Phosphate.

Die der Alkalien und der Magnesia sind leicht löslich. Das Calciumsalz $Ca(H_2PO_4)_2H_2O$ erhält man nach Joly[4]) in schönen luftbeständigen rhombischen Plättchen, wenn man reinen kohlensauren Kalk in der Kälte in überschüssiger Phosphorsäure löst und die Lösung im trockenen Vacuum concentrirt. Es löst sich nach Erlenmeyer[5]) zwar erst in 700 Theilen kaltem Wasser, doch reicht diese Löslichkeit aus, alles Calcium, wenn es im Harn bloss als zweifach saures Phosphat vorhanden wäre, ganz in Lösung zu halten. In Neutralsalzlösungen löst sich das Salz erheblich leichter als in Wasser. In Berührung mit einer zur Lösung ungenügenden Menge Wasser zersetzt sich das Salz in Phosphorsäure und das schwerer lösliche einfach saure Salz:



$$Ca(H_2PO_4)_2 = H_3PO_4 + CaHPO_4.$$

Von der Concentration der ursprünglichen Lösung hängt es ab, ob und wieviel von dem gebildeten einfach sauren Phosphat sich abscheidet. Dieselbe Zersetzung erleidet eine nicht zu verdünnte Lösung des zweifach sauren Phosphats beim Kochen, wobei sich das einfach saure Salz ausscheidet (Erlenmeyer[6]). Neutralsalze erschweren diese Zersetzung

---

1) E. Filhol u. Senderens, Comptes rendus **94**. 649. 1882.

2) Berzelius, Gilbert's Ann. d. Physik **53**. 397. 1816; Ann. de chimie et de physique **2**. 153. 1816.

3) Graham, Philos. Transact. **2**. 253. 1833.

4) A. Joly, Comptes rendus **97**. 1480. 1883.

5) Erlenmeyer, Berichte d. chem. Gesellsch. **9**. 1839. 1876.

6) Erlenmeyer, Jahresbericht d. Chemie 1857. 147 u. 1873. 274. — G. Vorbringer, Ztschr. f. analyt. Ch. **9**. 457. 1870. — K. Birnbaum, Ztschr. f. Chemie [2] **7**. 140. 1871.

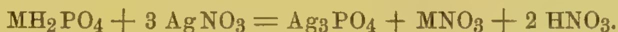
in beiden Fällen. Wegen der zu grossen Verdünnung der Lösung des Salzes und gleichzeitiger Gegenwart von Neutralsalzen tritt diese Zersetzung im Harn nicht ein, es erfolgt beim Kochen von Harn, der nur zweifach saures Phosphat enthält, kein Niederschlag.

Diese Zersetzung des zweifach sauren Baryumphosphats durch siedendes Wasser war bereits Berzelius[1]) bekannt.

Eine sehr verdünnte Lösung von zweifach saurem Calcium- oder Baryumphosphat (mit nur 6,5 g Calciumsalz im Liter) giebt nach Joly[2]) einen Niederschlag von einfach saurem Phosphat, wenn man die Wand des Glases mit einem Glasstab reibt oder die Flüssigkeit auf 80° erwärmt. Die Menge des Niederschlags nimmt zu mit der Concentration der Lösung und wenn man bei Darstellung des zweifach sauren Salzes aus Phosphorsäure und Kalkhydrat der Phosphorsäurelösung eine grössere Concentration ertheilt, bleibt gleich anfangs ein Theil des Kalkphosphats als einfach saures Salz ungelöst. Stellt man sich von dem krystallisirten Salz in der Kälte wässrige Lösungen her, so nimmt mit der Concentration der Lösung auch der Gehalt der Lösungen an freier Säure zu, bis die Lösung zuletzt auf 1 Theil als zweifach saures Phosphat gegenwärtige Phosphorsäure 0,5 Thl. freie Phosphorsäure enthält. Verdünnt man der Lösungen, so sinkt die Menge der freien Phosphorsäure und bei einem gewissen hohen Grad der Verdünnung ist gar keine freie Säure in Lösung (und kein einfach saures Phosphat ungelöst). Die Reaction, welche zur Zersetzung des einfach sauren Calciumphosphats führt, ist also umkehrbar und das Gleichgewicht bedingt durch die Concentration.

Eine nur mässig concentrirte Lösung von zweifach saurem Kaliumphosphat giebt in der Kälte keinen Niederschlag mit Chlorcalcium (oder Chlorbaryum). Dagegen wird jede Lösung eines zweifach sauren Phosphats gefällt durch Silber-, Blei-, Uran- und Eisenoxydsalze.

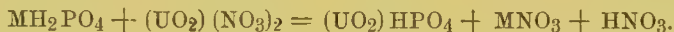
Der Silberniederschlag ist normales phosphorsaures Silber und entsteht nach



$$MH_2PO_4 + 3\,AgNO_3 = Ag_3PO_4 + MNO_3 + 2\,HNO_3.$$

Derselbe ist citronengelb, löst sich in Salpetersäure leicht, sehr schwer dagegen in Essigsäure; daher ist nach Hollmann[3]) die Fällung der Phosphorsäure in Gegenwart von Natriumacetat vollständig.

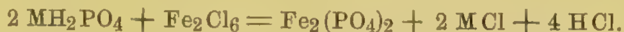
Der Uranniederschlag besteht aus einfach saurem Uranphosphat und bildet sich nach



$$MH_2PO_4 + (UO_2)(NO_3)_2 = (UO_2)HPO_4 + MNO_3 + HNO_3.$$

Der Niederschlag besitzt eine mattgelbe Farbe, löst sich in Mineralsäuren, aber nicht in Essigsäure. Da bei der Umsetzung von salpetersaurem Uran und saurem Phosphat Salpetersäure frei wird, so ist die Fällung keine vollständige, sie wird es aber, wenn man der Flüssigkeit essigsaures Salz hinzusetzt; das in Lösung gegangene Uranphosphat wird dadurch, namentlich in der Wärme, wieder vollständig abgeschieden. Der Niederschlag enthält von vornherein alle Phosphorsäure, wenn zur Fällung essigsaures Uran verwendet wird.

Das phosphorsaure Eisenoxyd ist das normale Salz; es entsteht nach



$$2\,MH_2PO_4 + Fe_2Cl_6 = Fe_2(PO_4)_2 + 2\,MCl + 4\,HCl.$$

Der Niederschlag ist gallertig und weiss, unlöslich in Essigsäure, aber löslich in Mineralsäuren; die Fällung ist also, wie die durch Silber- oder Uransalz, auch nur bei Gegenwart von essigsaurem Salz vollständig. Der Niederschlag löst sich ferner in Eisenchlorid sowie in essigsaurem Eisenoxyd.

---

1) Berzelius, a. a. O.
2) Joly, a. a. O.
3) A. F. Hollmann, Ztschr. f. analyt. Ch. **33**. 185. 1894.

b. Die einfach sauren Phosphate.

1. Die einfach sauren Alkaliphosphate sind löslich.

2. Die einfach sauren Erdalkaliphosphate sind schwer löslich und besitzen die Eigenschaft sich beim Kochen ihrer Lösungen zu zersetzen in normales Phosphat, welches ausfällt, und in zweifach saures Phosphat, welches in Lösung bleibt; die Flüssigkeit nimmt dabei stark saure Reaction an. Bleibt der Niederschlag mit der Lösung in Berührung, so bildet sich nach Joly[1]) in der Kälte langsam wieder einfach saueres Phosphat, und der Niederschlag verringert sich oder geht ganz in Lösung.

3. Die für den Harn in Betracht kommenden einfach sauren Erdalkaliphosphate sind das Magnesium- und das Calciumsalz.

a) Das Magnesiumphosphat $MgHPO_4$, 14 H_2O krystallisirt langsam in Nadeln, wenn man verdünnte Lösungen von einfach saurem Natriumphosphat und Magnesiumsulphat bei gewöhnlicher Temperatur mischt. In höherer Temperatur entsteht ein Salz mit nur 6 H_2O. Der amorphe Niederschlag, welcher sich beim Mischen concentrirter Lösungen bildet, verwandelt sich bei längerem Verweilen in der Flüssigkeit in das krystallinische Salz.

Von dem krystallisirten Salz lösen sich ungefähr 3 Theile, von dem wasserfreien Salz 1 Theil in 1000 Theilen Wasser. Das Wasser des Harns allein würde also genügen, die Magnesia in Lösung zu halten, wenn sie bloss als einfach saures Phosphat vorhanden wäre. Von gesättigter Bittersalzlösung wird das einfach saure Magnesiumphosphat leicht gelöst.

b) Das in der Kälte krystallisirte Calciumphosphat enthält 2 H_2O; aus siedendem Wasser kann es sich nach Joly[2]) wasserfrei ausscheiden. Ausser durch Mischen von Chlorcalcium mit angesäuerter Natriumphosphatlösung (Bence Jones, Boedeker) erhält man es, wenn man das einfach saure Natriumphosphat und das Chlorcalcium sehr langsam (durch Diffusion) zu einander treten lässt. Versetzt man Harn bis zur schwach sauren Reaction mit Ammoniak, oder Kali, oder Natronphosphat, so fällt das Phosphat in Krystallen aus. Es tritt manchmal als Sediment im Harn auf und bildet dann kleine, sehr spitze rhombische Täfelchen, oft mit abgerundeten stumpfen Winkeln oder eigenthümlich gestaltete Prismen (Tafel I. Fig. 1 unten), in einzelnen Individuen oder in Drusen. Die Krystalle werden durch kohlensaures Natron oder kohlensaures Ammon theilweise zu kohlensaurem Kalk zersetzt.

Von dem Salz lösen sich ungefähr 0,15 g im Liter Wasser. Diese Löslichkeit ist zu gering, als dass der im Harn vorkommende Kalk, wenn er bloss als einfach saures Phosphat zugegen wäre, von dem Wasser des Harns allein gelöst werden könnte. Die Löslichkeit wird aber durch gewisse Salze wesentlich erhöht. Von

---

1) A. Joly, a. a. O. **104**. 1132.
2) Joly, a. a. O. **118**. 739. 1894.

solchen im Harn enthaltenen Salzen kommen nach Ott's[1]) Mittheilung in Betracht zweifach saures Alkaliphosphat, Chlornatrium, Magnesiumsulphat; der Harnstoff ist indifferent. Einfach saures Alkaliphosphat dagegen bewirkt in Lösungen von einfach saurem Kalkphosphat Niederschläge; dieses Salz ist also kein Lösungsmittel für das einfach saure Kalkphosphat.

Der Niederschlag von normalem Phosphat, welchen man beim Kochen gesättigter wässriger Lösung von einfach saurem Calciumphosphat erhält, ist, wie der des Magnesiumphosphats, flockig und im Aussehen einem Eiweissniederschlag zum Verwechseln ähnlich. Salze, welche das einfach saure Kalkphosphat lösen, wirken auch dieser Zersetzung entgegen. Mässige Niederschläge lösen sich in der Flüssigkeit beim Stehen wieder auf. Von Haus aus sehr schwach saure (amphotere) normale Harne oder solche, deren saure Reaction durch Alkalihydrat oder Carbonat oder durch einfach saures Phosphat abgestumpft ist, geben bei genügender Concentration in der Hitze, manchmal schon vor dem Sieden, solche Niederschläge. Nach Stokvis[2]) besteht dieser Niederschlag aus Harn aber nur aus (normalem) Calciumphosphat, dem manchmal Spuren oxalsauren oder schwefelsauren Kalks beigemischt sein können; Magnesium enthält er dagegen niemals. Das erklärt sich daraus, dass das normale Calciumphosphat viel schwerer löslich ist als das normale Magnesiumphosphat.

c. Die normalen Phosphate.

Die der Alkalien sind löslich, die der alkalischen Erden noch schwerer löslich als ihre einfach sauren Phosphate.

1. Normale phosphorsaure Magnesia erhält man als amorphen Niederschlag durch Mischen einer Lösung von normalem phosphorsauren Alkali mit schwefelsaurer Magnesia. Ein krystallinisches Salz hat die Zusammensetzung $Mg_3(PO_4)_2 + 22\ H_2O$.

Es entsteht, wenn man eine Lösung von 15 g krystallisirtem (einfach sauren) phosphorsauren Natron in 200 cc Wasser mit einer solchen von 3,7 g krystallisirter schwefelsaurer Magnesia in 2 *l* Wasser mischt und die nun saure Flüssigkeit mit doppeltkohlensaurem Natron bis zur amphoteren Reaction versetzt. In 12 bis 24 Stunden scheiden sich rhombische Tafeln mit Winkeln von annähernd 60^0 und 120^0 aus, oder längliche Tafeln mit schief aufgesetzten Endkanten, welche dieselben Winkelverhältnisse zeigen.

Solche Krystalle sind als Harnsediment beobachtet worden. Durch kohlensaures Ammon werden die Krystalle allmählich in phosphorsaure Ammon-Magnesia übergeführt (Stein[3]). — Von dem frisch gefällten amorphen Salze lösen sich 0,2 g im Liter Wasser.

---

1) Ad. Ott, a. a. O. 8.

2) B. J. Stokvis, Nederl. Tijdschr. voor Geneesk. Bijlage 1882, 105; Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1883. 885.

3) Stein, Annalen d. Chemie 187. 87. 1877.

2. Das normale Kalkphosphat wird aus Chlorcalcium und normalem Alkaliphosphat als gallertiger amorpher Niederschlag erhalten, der sich in Berührung mit Wasser leicht zu zweifach saurem Phosphat und dem basischen Salz $Ca_3(PO_4)_2$, CaO zersetzt. Von dem normalen Kalkphosphat löst sich etwa 0,01 g im Liter Wasser; Alkalisalze, namentlich Ammonsalze, und gewisse organische Substanzen (Leim etc.) erhöhen seine Löslichkeit in Wasser.

3. Phosphorsaure Ammon-Magnesia, $Mg \cdot H_4N \cdot PO_4$, $6\,H_2O$ (Tripelphosphat) bildet relativ grosse Krystalle des rhombischen Systems. Der sich beim Mischen concentrirter Lösungen seiner Bestandtheile abscheidende Niederschlag ist unvollkommen krystallinisch, wenn dagegen die Lösungen sehr verdünnt sind oder sehr langsam in einander fliessen, so entstehen gut ausgebildete Krystalle.

Der weisse Niederschlag, welcher entsteht, wenn man zu einer Mischung von schwefelsaurer Magnesia und Chlorammon, oder zu einer klaren Lösung von Magnesiahydrat (aus schwefelsaurer Magnesia oder Chlormagnesium und Ammoniak) in Chlorammon („Magnesiamischung") einfach saures phosphorsaures Natron hinzufügt, ist unvollkommen krystallinisch. Setzt man aber nach Stein zu einer Lösung von 5 g krystallisirter schwefelsaurer Magnesia und 0,8 g Salmiak in 500 cc Wasser eine Lösung von 7 g krystallisirtem einfach sauren Natronphosphat in gleichfalls 500 cc Wasser, so fällt in einigen Minuten das Salz in Krystallen aus.

Das Salz löst sich schwer in Wasser, fast gar nicht in ammoniakhaltigem Wasser. Durch kohlensaures Ammon wird es nur sehr wenig angegriffen. Es findet sich in Harnsedimenten, aber nur von solchen amphoteren oder alkalischen Harnen, welche Ammonsalze enthalten, demnach vor Allem in (faulen) Harnen, in welchen der Harnstoff in kohlensaures Ammon verwandelt worden ist. Das Sediment kommt aber auch in ganz frischen Harnen vor, so in denen von Hunden und Katzen bei Fütterung mit Fleisch. Auch in frischem menschlichen Harn ist es nicht gar selten.

d. Die basischen Phosphate.

Die basischen Phosphate der alkalischen Erden besitzen die Zusammensetzung der normalen Phosphate mit einem Ueberschuss von Basis (Oxyd oder Hydrat). Es sind deren mehrere bekannt. Sie sind unlöslich und gelatinös, selten krystallisirt. Für den Harn kommt ihre Bildungsweise in Betracht. Sie entstehen nach Berthelot und Louguinine[1], wenn Phosphorsäure mit überschüssigem Hydrat einer alkalischen Erde längere Zeit in Berührung bleibt, nach Lieblein[2] aber auch, wenn ein normales Alkaliphosphat mit Alkalihydrat und einem Erdalkalisalz (Chlorbaryum) versetzt wird.

---

1) Berthelot und Louguinine, Comptes rendus **81**. 1074. 1875.
2) V. Lieblein, Ztschr. f. physiolog. Ch. **20**. 56. 1894.

e. Verhalten der Phosphate gegen Farbstoffe (Indicatoren).

1. Gegen Lackmus reagirt das zweifach saure Phosphat sauer, das einfach saure und normale Phosphat dagegen alkalisch. Versetzt man eine Lösung von zweifach saurem Phosphat allmählich mit Alkalihydrat, oder einfach saures Phosphat allmählich mit Säure, so tritt ein Punkt ein, wo empfindliches violettes Lackmuspapier seine Farbe behält, während empfindliches rothes Lackmuspapier seine Farbe nach blau hin (in violett), blaues seine Farbe nach roth hin (in violett) verändert. Die Lösung reagirt jetzt alkalisch und sauer zugleich; man nennt diese Reaction deshalb die amphotere. Zu demselben Resultat gelangt man, wenn man einer Lösung von einfach saurem Phosphat allmählich eine Lösung von zweifach saurem Phosphat hinzufügt, oder umgekehrt.

Bei quantitativer Ausführung des Versuchs ergiebt sich eine entschieden amphotere Reaction, wenn die Lösung von der gesammten Phosphorsäure 0,3—0,5 als zweifach saures, 0,7—0,5 als einfach saures Phosphat enthält. Mit sehr empfindlichem Lackmuspapier ist die saure Reaction auch noch bei 0,25 bis 0,20 und die alkalische noch bei 0,55 bis 0,60 zweifach saurem Phosphat wahrnehmbar. Die Grenze ist also keineswegs eine scharfe und zum Theil abhängig von der Empfindlichkeit der Reagenspapiere.

Harn scheint sich etwas anders zu verhalten als die Lösung reiner Phosphate; er reagirt nach Lieblein[1]) bei einem Gehalt von 35 % der gesammten Phosphorsäure im zweifach sauren Phosphat gegen empfindliches Lackmuspapier amphoter, bei einem stärkeren Gehalt an diesem Salz sauer.

Es ist gleichgültig, ob man die beiden Phosphate direkt zusammenmischt oder in der Lösung einfach saures durch Salzsäure in zweifach saures, oder dieses durch Lauge in einfach saures überführt. Lackmuslösung färbt sich mit dem amphoteren Gemisch selbstverständlich bloss violett.

Mit diesem Befund stimmt die Angabe von Filhol und Senderens[2]) überein, dass das Sesquiphosphat (gleiche Molecüle einfach- und zweifachsaures Phosphat), sowie seine Mutterlauge „neutral“ reagiren.

Die auffällige Thatsache, dass ein solches Gemisch von einfach- und zweifachsaurem Phosphat zugleich alkalisch und sauer reagirt, erklärt Heintz[3]) unter der Annahme, dass der rothe basenfreie Lackmusfarbstoff wie eine zweibasische Säure mit den Alkalien zweierlei Salze bilde, ein saueres violettes und ein neutrales blaues. Zweifach saures Phosphat entziehe dem neutralen Lackmussalz einen Theil der Basis und verwandle es in das violette saure Salz, während das einfach saure Phosphat an den freien Lackmusfarbstoff Basis bis zur Bildung des gleichfalls sauren Salzes abgebe. In dem amphoteren Gemisch beider Phosphate ist dann nur diese eine Lackmusverbindung möglich; überwiegt das eine oder das andere Phosphat, dann bildet sich entweder das neutrale Lackmussalz oder der Farbstoff wird frei.

---

[1]) Lieblein, a. a. O. 79.

[2]) Filhol und Senderens, Comptes rendus **94**. 649. 1882.

[3]) Heintz, Würzburger med. Ztschr. **2**. 230. 1861; Journ. f. prakt. Ch. **85**. 24. 1862.

Die von Mitscherlich[1]) herrührende, oft wiederholte Angabe, dass von zweifachsaurem Phosphat geröthetes Lackmuspapier beim Trocknen wieder blau wird, ist unrichtig. Das Salz sollte beim Krystallisiren die Säure wieder dem Papier entziehen.

Sehr empfindliche Lackmuslösung erhält man nach folgender Vorschrift von Mays[2]). Es werden 100 g Lackmus erst mit 700 cc, dann mit 300 cc Wasser ausgekocht, die vereinigten Lösungen nach 1—2 Tagen vom Bodensatz abgegossen, mit Salzsäure angesäuert und 3—4, besser 8 Tage in einem Pergamentschlauch gegen fliessendes (salzarmes) Wasser dialysirt. Man dampft zweckmässig den Auszug vor dem Ansäuern wenigstens auf die Hälfte ein. Eine dieser fast gleiche Vorschrift giebt Lüttke.[3]) Auf einfachere Art erhält man eine Lackmuslösung, welche der von Mays an Empfindlichkeit kaum nachsteht, wenn man nach Reinitzer[4]) den wässrigen Lackmusauszug zum Sieden erhitzt und tropfenweise mit so viel Salzsäure versetzt, bis er nach 7—8 Minuten langem Sieden nicht mehr blau wird. Der Zusatz der Säure wird so bemessen, dass die verdünnte Lösung rosenroth (mit schwachem Stich in blau) erscheint. In beiden Fällen verwendet man die beste Lackmussorte zur Herstellung der Lösung.

Lackmustinctur wird in offener (mit Watte verschlossener) Flasche aufbewahrt. Schimmeln derselben ändert wohl in unschädlicher Weise ein wenig ihre Farbe, aber nicht die Empfindlichkeit. Conservirende Zusätze verderben den Farbstoff leicht. Die nach Mays bereitete Lösung kann man direkt eindampfen oder nach Lüttke aus der concentrirten Lösung den Farbstoff erst mit Alkohol fällen und ihn dann trocknen und so aufbewahren.

Zum Herstellen von Lackmuspapier tränkt man handbreite Streifen Filtrirpapier mit der Lösung und trocknet sie. Da das Papier sauer reagirt, erhält man das rothe direkt; für das blaue muss man die Lösung mit soviel kohlensaurem Natron versetzen, dass ein kleines Probestück Papier nach dem Trocknen gerade blau ist; die grossen Streifen werden dann an demselben Orte und unter denselben Umständen getrocknet wie das Probestück. Das fertige Reagenspapier wird vor Luft und Licht geschützt aufgehoben.

2. Cochenilletinctur färbt sich durch Säuren gelb, durch Alkalihydrate violettroth. Das zweifach saure Phosphat verhält sich nach Schlickum[5]) wie eine Säure, die beiden anderen Phosphate wie Alkalihydrate. Titrirt man Phosphorsäure mit Normalalkali, so geht das Gelb in violettroth über, und nach Tobias[6]) beim Titriren von Alkali mit Phosphorsäure das Violettroth durch roth in gelb über, wenn im ersten Falle alle Phosphorsäure und im zweiten alle Basis als MH_2PO_4 vorhanden ist. Die Bestimmungen sind nach Tobias genau.

Cochenilletinctur bereitet man nach Luckow[7]) durch Digestion einiger Gramme Cochenillekörner mit $^1/_4$ l eines Gemisches von 3—4 Vol. Wasser mit 1 Vol. Alkohol in der Kälte. Die Lösung wird abfiltrirt oder abgegossen. Die rückständige Cochenille lässt sich noch öfter zur Herstellung der Tinctur benutzen.

---

[1]) E. Mitscherlich, Ann. de chimie et de physique **19**. 362. 1821.

[2]) Mays, Chem. Centralbl. 1886. 99.

[3]) J. Lüttke, Apotheker-Ztg. 1891. 643; Ztschr. f. analyt. Ch. **31**. 692.

[4]) R. Reinitzer, Ztschr. f. angewandte Ch. 1894; Ztschr. f. analyt. Ch. **34**. 575.

[5]) O. Schlickum, Archiv d. Pharm. [3] **15**. 725. 1879; Ztschr. f. analyt. Ch. **21**. 570; Berichte der chem. Gesellsch. **12**. 2253.

[6]) G. Tobias, Berichte der chem. Gesellsch. **15**. 2452. 1882.

[7]) Luckow, Journ. f. prakt. Ch. **84**. 424.

3. Phenolphtalein wird durch einfach saures Alkaliphosphat blassroth; fügt man der Mischung noch ein wenig Alkalihydrat hinzu, so wird sie so stark roth wie durch Alkali allein bei Abwesenheit von Phosphorsäure, farblos dagegen bei Zusatz von etwas Phosphorsäure (Tobias).

Dementsprechend verbrauchte Thomson[1]) beim Neutralisiren von Harn in Gegenwart von Phenolphtaleïn ungefähr noch einmal so viel Lauge als beim Neutralisiren desselben Harns in Gegenwart von Lackmus. Es ist jedoch zu beachten, dass der Farbenwechsel von farblos durch blassroth zu stark roth beim Titriren von zweifach saurem Phosphat mit Lauge nur allmählich eintritt und die Reactionsbreite um so grösser ist, je mehr man Phenolphtalein zugesetzt hat. Der Farbstoff wird in alkoholischer Lösung angewandt.

4. Methylorange (identisch mit Orange 3 von Poirrier und Helianthin von Stuttgart), oder Aethylorange (Stohmann[2]), wasserlöslich, wird durch Säuren roth, durch Alkalien citronengelb, durch das normale und das einfach saure Phosphat gleichfalls citronengelb, durch das zweifach saure braungelb. Versetzt man eine mit Methylorange gelb gefärbte Phosphatlösung mit Säure, so tritt erst dann Röthung ein, nachdem alles Phosphat in zweifach saures übergeführt ist. Die Reaction auf freie Säure neben zweifach saurem Phosphat ist empfindlich.

Zum Titriren von zweifach saurem Phosphat neben einfach saurem, wozu Joly[3]) das Methylorange vorgeschlagen hat, ist der Farbstoff nicht brauchbar.

5. Alizarinroth (Alizarinmonosulfosäure, Alizarinroth S der badischen Anilin- und Sodafabrik in Ludwigshafen), von Freund und Toepfer[4]) empfohlen, ist in wässriger Lösung bräunlich gelb, wird mit Säure citronengelb, bleibt bei neutraler Reaction gelb, wird durch Alkalihydrat erst bräunlich, dann dunkelroth und zuletzt violett. Mit zweifach saurem Phosphat färbt es sich lichtbraun, geht auf Zusatz von wenig Alkalihydrat nicht scharf durch violettbraun in violett über und behält diese Färbung auch bei weiterem Alkalizusatz. Titrirt man einfach saures Phosphat mit Säure, so ist die Flüssigkeit, wenn nur zweifach saures Phosphat vorhanden ist, braun, wird aber durch eine Spur Säure sogleich citronengelb.

Als Farbenreagentien auf die Phosphate sind noch versucht und vorgeschlagen worden Tropäolin 00, Phenacetolin, das lösliche Blau C 4 B von Poirrier (Alkaliblau), Säurefuchsin (Rubin S), Congoroth, Lakmoid. Alle diese Farbstoffe eignen sich jedoch wegen ihrer sehr geringen Empfindlichkeit nicht für diesen Zweck.

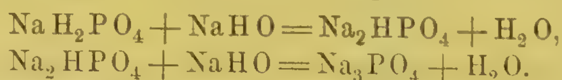
---

[1]) R. T. Thomson, Chem. News **52**. 18; Ztschr. f. analyt. Ch. **27**. 53.
[2]) Stohmann, Journ. f. prakt. Ch. [2] **44**. 340. 1891.
[3]) A. Joly, Comptes rendus **94**. 529. 1882; **102**. 316. 1886.
[4]) E. Freund u. G. Toepfer, Ztschr. f. physiol. Ch. **19**. 86. 1894.

f. Die Phosphate des Harns im Allgemeinen.

Die zweifach sauren Phosphate können in die einfach sauren und diese in die normalen übergeführt werden durch Zusatz von Alkali- oder Erdalkalihydraten oder von Alkalicarbonaten zu ihren Lösungen. Umgekehrt erhält man aus den metallreicheren die metallärmeren mittelst Säuren.

1. Versetzt man die Lösung eines zweifach sauren Alkaliphosphats mit Alkalihydrat, so wird das zweifach saure Phosphat zuerst zu einfach saurem und dann zu normalem Phosphat:

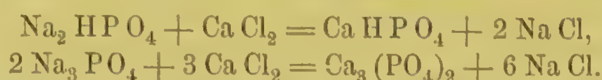


$$NaH_2PO_4 + NaHO = Na_2HPO_4 + H_2O,$$
$$Na_2HPO_4 + NaHO = Na_3PO_4 + H_2O.$$

Da die einfach sauren und die normalen Alkaliphosphate löslich sind, so bleibt die Flüssigkeit klar, aber ihre ursprünglich saure Reaction geht in die gegen Lackmus alkalische über. Alkalicarbonate dagegen bewirken keine vollständige Umsetzung.

Zweifach saures Kaliumphosphat und normales Kaliumcarbonat zersetzen sich gegenseitig unter ziemlich lebhafter Kohlensäureentwickelung; die Umsetzung ist aber nach Staudenmaier[1]) bei der Einwirkung von 2 Mol. Phosphat auf 1 Mol. Carbonat nicht vollständig, es bleibt immer Carbonat in Lösung und beim Eindampfen werden grosse Mengen von zweifach saurem Phosphat wieder erhalten.

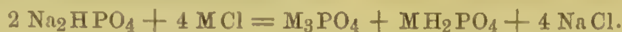
2. Fügt man der Lösung eines einfach sauren oder normalen Alkaliphosphats das Salz einer alkalischen Erde zu, so entsteht ein Niederschlag des entsprechenden Erdalkalisalzes:



$$Na_2HPO_4 + CaCl_2 = CaHPO_4 + 2\,NaCl,$$
$$2\,Na_3PO_4 + 3\,CaCl_2 = Ca_3(PO_4)_2 + 6\,NaCl.$$

Doch verläuft die Reaction zwischen dem einfach sauren Phosphat und dem Erdalkalisalz nicht so typisch, es bildet sich immer zugleich normales Phosphat, in um so grösserer Menge, je verdünnter die Lösung des Alkaliphosphats ist, und erst nachträglich geht der Niederschlag, wenn er mit der Flüssigkeit in Berührung bleibt, allmählich in das einfach saure Erdalkaliphosphat über, aber auch nicht vollständig.

Aus einer verdünnten Lösung von einfach saurem Natriumphosphat (mit 8, besser nur 4,7 g Salz im Liter) fällt nach Joly[2]) auf Zusatz eines Erdalkalisalzes ein gallertiger Niederschlag, dessen Zusammensetzung sich nur wenig von dem des normalen Phosphats unterscheidet:



$$2\,Na_2HPO_4 + 4\,MCl = M_3PO_4 + MH_2PO_4 + 4\,NaCl.$$

Es entsteht zugleich zweifach saures Phosphat, welches sich in der Lösung befindet und sich mit dem normalen Phosphat des Niederschlags umsetzt; nach Joly erfolgt diese Umsetzung in der Weise, dass sich das zweifach saure Phosphat

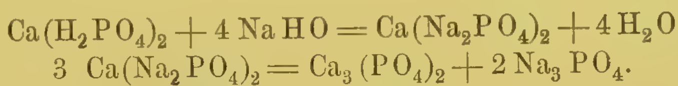
---

1) Staudenmaier, Ztschr. f. anorganische Ch. 5. 383; Ch. Centralbl. 1894. 1. 193; Berichte der chem. Gesellsch. 27. Rf. 158.

2) A. Jolly, Comptes rendus 103. 1129. 1886; 104. 905. 1887. — A. Jolly u. E. Sorel, daselbst 118. 739. 1894.

zerlegt in einfach saures, welches auskrystallisirt und in freie Phosphorsäure, welche das normale Phosphat in krystallinisches einfach saures überführt. Die Schnelligkeit der Zersetzung des im Niederschlag befindlichen normalen Phosphats durch das gelöste zweifach saure hängt also ab von der Leichtigkeit, mit welcher sich das zweifach saure Phosphat zersetzt und diese ist bedingt durch die Concentration der Lösung und die Temperatur, welche beschleunigt; es zersetzt sich um so leichter, je concentrirter die Lösung ist. Vollständig wandelt sich das normale Salz in das einfach saure aber nur bei saurer Reaction der Flüssigkeit um und es ist dazu selbst der Zusatz einer Säure, oder was dasselbe ist, von zweifach saurem Phosphat erforderlich, wie bereits Boedeker[1]) und vor diesem Bence Jones gefunden hatten.

3. Macht man die Lösung des zweifach sauren Phosphats einer alkalischen Erde, z. B. des Kalkphosphats, mit Alkalihydrat, z. B. Natronlauge, alkalisch, so entsteht ein Niederschlag von einfach saurem und zugleich normalem Kalkphosphat (Lieblein[2]). In diesem Falle bildet sich aus dem zweifach sauren Kalkphosphat und dem Alkalihydrat zunächst einfach saures, dann normales Kalk-Natronphosphat, welches sich weiterhin zu einfach saurem oder normalem Kalkphosphat und Natronphosphat zersetzt. Für die normalen Salze lässt sich die Reaction durch folgende Formelgleichungen ausdrücken:



$$Ca(H_2PO_4)_2 + 4\,NaHO = Ca(Na_2PO_4)_2 + 4\,H_2O$$
$$3\ Ca(Na_2PO_4)_2 = Ca_3(PO_4)_2 + 2\,Na_3PO_4.$$

Eine Lösung von Alkaliphosphat und Erdalkalisalz verhält sich ebenso, denn sie ist im Wesentlichen nichts anderes als eine Lösung von zweifach phosphorsaurer alkalischer Erde.

Da das normale Kalkphosphat viel schwerer löslich ist als das normale Magnesiumphosphat, so entsteht in einem solchen Falle zuerst ein Niederschlag von Kalkphosphat und erst nachdem aller Kalk gefällt ist, geht Magnesia mit in den Niederschlag ein, wenn, wie im Harn, die Phosphorsäure dazu ausreicht (Pellet[3]).

Auf Zusatz von überschüssigem Ammoniak zu Harn entsteht nach Neubauer[4]) ein Niederschlag von normalem Kalkphosphat und von Tripelphosphat.

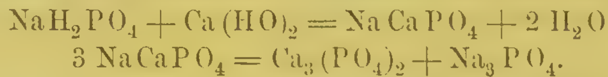
4. Enthält eine Phosphatlösung mehr Alkalihydrat als das normale Phosphat verlangt, und fügt man ein Erdalkalisalz hinzu, so fällt nach Lieblein[5]) ein basisches Phosphat aus, welches mehr alkalische Erde enthält, als dem normalen Phosphat entspricht. Das von Lieblein beobachtete basenreichste hatte die Zusammensetzung $2\ Ba_3(PO_4)_2$, $Ba(OH)_2$.

---

[1]) Boedeker, Ann. d. Ch. u. Pharm. **69**. 206. 1849.
[2]) V. Lieblein, Ztschr. f. physiol. Ch. **20**. 68. 1894.
[3]) H. Pellet, Bull. de la Soc. chim. **27**. 105.; Chem. Centralbl. 1877. 119.
[4]) Neubauer, Journn. f. prakt. Ch. **67**. 69. 1856.
[5]) V. Lieblein, a. a. O. 56.

Uebersättigt man einen Harn mit Alkalihydrat, so fällt nach 3. normales Erdalkaliphosphat; auf nachträglichen Zusatz von Chlorbaryum giebt dann die in Lösung gebliebene Phosphorsäure einen Niederschlag von basischem Baryumphosphat.

5. Macht man zweifach saures Alkaliphosphat mit dem Hydrat einer alkalischen Erde alkalisch, so erfolgt gleichfalls ein Niederschlag:



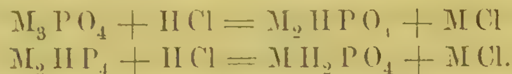
$$NaH_2PO_4 + Ca(HO)_2 = NaCaPO_4 + 2H_2O$$
$$3NaCaPO_4 = Ca_3(PO_4)_2 + Na_3PO_4.$$

Es bleibt noch normales Alkaliphosphat in Lösung, dessen Phosphorsäure sich durch das lösliche Salz einer alkalischen Erde abscheiden lässt.

Da der normale Harn immer mehr Phosphorsäure enthält, als die gleichzeitig vorhandenen alkalischen Erden zur Bildung von normalem Phosphat brauchen, so ist es nicht möglich, aus dem Harn dadurch, dass man ihn bloss alkalisch macht, alle Phosphorsäure zu fällen.

6. Aus den entwickelten Reactionen ergiebt sich, dass ein von Haus aus alkalischer oder erst nach der Entleerung alkalisch gemachter oder alkalisch gewordener Harn (des Menschen oder eines Fleischfressers) ein Sediment von phosphorsauren alkalischen Erden (Phosphatsediment) enthalten muss. Dasselbe kann aus einfach sauren oder normalen Phosphaten der alkalischen Erden oder, bei Gegenwart von Ammoniak oder Ammonsalzen, auch aus phosphorsaurer Ammon-Magnesia bestehen.

7. Säuren führen umgekehrt die normalen Phosphate in einfach saure und diese in zweifach saure über:

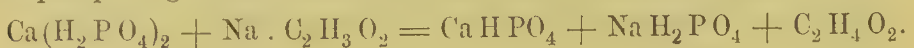


$$M_3PO_4 + HCl = M_2HPO_4 + MCl$$
$$M_2HP_4 + HCl = MH_2PO_4 + MCl.$$

Die Zersetzung wird auch durch Kohlensäure bewirkt; eine Lösung von einfach saurem Natronphosphat löst mehr Kohlensäure als Wasser.

Das zweifach saure Phosphat der alkalischen Erden ist löslich; die normalen oder einfach sauren Phosphate gehen also bei Zusatz einer Säure in Lösung. Salzsäure und Salpetersäure bewirken die Lösung leicht, von der relativ viel schwächeren Essigsäure bedarf man dagegen zur Lösung viel mehr, als von den beiden Mineralsäuren; es kommt von der zugesetzten Essigsäure nur ein Bruchtheil zur Wirkung.

Auch die Phosphorsäure ist relativ stärker wie die Essigsäure, aber relativ schwächer wie die Salzsäure. Daher rührt es, dass eine Lösung von zweifach saurem Kalkphosphat, welche auf Zusatz von Chlornatrium klar bleibt, mit essigsaurem Natron einen Niederschlag von einfach saurem Kalkphosphat giebt:



$$Ca(H_2PO_4)_2 + Na.C_2H_3O_2 = CaHPO_4 + NaH_2PO_4 + C_2H_4O_2.$$

Der Niederschlag kann nach Birnbaum[1]) in der Kälte durch Zusatz von 1 Mol. Essigsäure auf 1 Mol. P_2O_5 verhütet werden, in der Siedehitze bedarf es dazu jedoch 9 Mol. Essigsäure, weil sich die Kalkphosphate beim Kochen unter Abscheidung basischer Salze zersetzen (B. a. u. b. 2. S. 24 u. 26).

C. *Nachweis.* Die Erkennung der Phosphorsäure in saurem Harn unterliegt keiner Schwierigkeit; der durch Ammoniak sogleich entstehende Niederschlag von Erdphosphaten lässt über die Anwesenheit der Säure keinen Zweifel. Die nun noch als normales Alkaliphosphat in Lösung befindliche Phosphorsäure findet man leicht, wenn man das Filtrat des Ammoniakniederschlags mit Magnesiamischung (B. c. 3. S. 28) versetzt oder das Filtrat mit Essigsäure ansäuert und mit Uranlösung oder mit Eisenchlorid prüft.

Die Uranlösung erzeugt bei Anwesenheit von Phosphorsäure in der sauren Flüssigkeit einen gelblichweissen Niederschlag und Eisenchloridlösung bei vorsichtigem Zusatz einen weissen, der durch mehr Eisenchlorid gelb wird, während die Magnesiamischung in dem alkalischen Filtrat einen Niederschlag von Tripelphosphat hervorruft. (B. a. S. 25).

Zur Erkennung eines Sediments als Phosphatniederschlag genügt der mikroskopische Nachweis von Tripelphosphatkrystallen in demselben. Will man ein Weiteres thun, so löst man das Sediment in Essigsäure und prüft einerseits mit Uransalz oder Eisenchlorid auf Phosphorsäure, andererseits mit Oxalat auf Kalk.

Ob ein flockiger Niederschlag, welcher beim Kochen eines Harns auftritt, aus normalem Kalkphosphat oder aus Eiweiss besteht, erfährt man auf Zusatz von etwas Salpetersäure; das Phosphat löst sich auf, das Eiweiss nicht.

In eiweisshaltigen Lösungen können sich kleine Mengen von Phosphaten dem Nachweis entziehen.

D. *Abscheidung.* Für manche Untersuchungen des Harns ist es erforderlich, aus dem Harn vorher die Phosphorsäure zu entfernen. Man erreicht dies leicht in der Weise, dass man ihn mit neutralem oder basischem essigsauren Blei ausfällt, oder dass man die Phosphate desselben erst durch Zusatz des Hydrats einer alkalischen Erde in normale überführt und den in Lösung gebliebenen Rest vollends mit einem löslichen Kalk- oder Barytsalz niederschlägt (B. f. 5. S. 34).

8. Kohlensäure.

Vorkommen. Die aus dem Harn durch physikalische Mittel (Durchleiten von Luft, Evacuiren) entfernbare Kohlensäure wird als freie (einfach gelöste), die dann noch durch Säuren austreibbare als gebundene bezeichnet.

Planer[2]) fand im Liter normalen Harn im Mittel 63,0 cc (44,1—99,6) auspumpbare und 30,7 cc (18,8—52,5) gebundene Kohlen-

[1]) K. Birnbaum, Ztschr. f. Chemie, N. F. 7. 141. 1871.

[2]) J. Planer, Zeitschr. d. Gesellsch. d. Wiener Aerzte 1859. 465; Canstatt's Jahresber. 1859. 1. 243.

säure, Pflüger[1]) 179 und 188 cc auspumpbare und 2,0 und 9,2 cc gebundene, Ewald[2]) bei Fieber in der Tagesmenge Harn im Mittel 200 cc, im fieberfreien Zustand 133 cc.

Nach den Untersuchungen von Wurster und Schmidt[3]) enthält der Liter normaler menschlicher Harn von 1,020 Dichte bei saurer Reaction im Mittel 40—50 cc, bei neutraler oder alkalischer Reaction über 100 cc durch einen Luftstrom austreibbare Kohlensäure. Der Kohlensäuregehalt bewegte sich zwischen 17 (bei geringen Dichten) und 294 cc. — In der Tagesmenge Harn wiesen Van Nuys und Lyons[4]) bei gemischter Kost 299 cc (229—400) Kohlensäure nach, bei Pflanzenkost im alkalischen Harn 554 cc (463—610). — Die Gasvolumina sind angegeben für 0⁰ und 760 mm. Hg.

Durch den Genuss solcher Nahrungsmittel, welche bei der Oxydation im Körper Carbonate mit fixer Basis liefern, kann der Harn reicher an Kohlensäure und an kohlensauren Salzen gemacht werden. Der alkalische Harn der Pflanzenfresser ist reich an kohlensauren Salzen und scheidet oft kohlensauren Kalk und kohlensaure Magnesia als Sediment ab.

Die Kohlensäure ist im Harn an Basen gebunden, zum geringeren Theil gelöst enthalten. Die Carbonate stehen einerseits mit der freien Kohlensäure, andererseits mit den sauren Phosphaten im Gleichgewicht. Wird die gelöste Kohlensäure aus dem Harn entfernt, so wird durch die Einwirkung des (zweifach) sauren Phosphats auf die Carbonate wieder Kohlensäure frei. Je vollkommener die gelöste Kohlensäure ausgetrieben wird, desto weiter geht die Zersetzung zwischen den beiden Salzen, um so mehr Kohlensäure erscheint dann als freie und um so geringer ist dann die Menge des unzersetzt gebliebenen Carbonats, vorausgesetzt, dass das vorhandene saure Phosphat auch ausreicht zur vollständigen Zerlegung der kohlensauren Salze. Das Durchleiten von Luft ist nicht so wirksam, wie das Evacuiren; in einem von Lieblein[5]) ausgeführten Versuch war durch einen lebhaften Gasstrom aus ungefähr 50 cc Harn die CO_2 in 6 Stunden noch nicht vollständig ausgetrieben. Beim Erhitzen des Harns zum Sieden giebt der Harn Kohlensäure ab aus den Carbonaten, aber nicht durch Zersetzen des Harnstoffs (Lieblein).

B. *Eigenschaften.* 1. Die Kohlensäure bildet neutrale (normale) Salze, M_2CO_3, und saure Salze, $MHCO_3$. Von den kohlensauren Salzen der Alkalien sind sowohl die sauren als die neutralen löslich, die sauren aber beträchtlich schwerer als die neutralen. Die normalen kohlensauren Salze der Erdalkalien dagegen sind schwer löslich, die sauren aber leichter als die normalen. Das kohlensaure Ammon ist schon bei gewöhnlicher Temperatur flüchtig.

2. Die sauren kohlensauren Salze reagiren gegen Lackmus neutral, die normalen alkalisch; beide lassen Methylorange gelb.

3. In Lösung befindliche saure kohlensaure Salze zersetzen sich leicht unter Abgabe der Hälfte ihrer Kohlensäure:



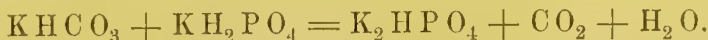
$$2\,MHCO_3 = M_2CO_3 + CO_2 + H_2O.$$

Diese Zersetzung wird befördert durch Wärme oder durch das Vacuum.

---

1) Pflüger, dessen Archiv **2**. 165. 1869.
2) Ewald, Archiv für Anat. u. Physiol. 1873. 1.
3) C. Wurster und A. Schmidt, Centralbl. f. Physiologie **1**. 421. 1887.
4) T. C. Van Nuys und R. E. Lyons, American chem. Journ. **14**. 16. 1891; Jahresb. f. Physiol. 1892. 207.
5) V. Lieblein, Ztschr. f. physiol. Ch. **20**. 77. 1894.

4. Säuren setzen sich mit den kohlensauren Salzen um zu Kohlensäure und dem Salz der angewandten Säure; aus hinlänglich concentrirten Lösungen der Carbonate kann sich die Kohlensäure unter Brausen entwickeln. Dieselbe Zersetzung wird auch durch zweifach saures Phosphat bewirkt:



$$KHCO_3 + KH_2PO_4 = K_2HPO_4 + CO_2 + H_2O.$$

Die Zersetzung ist aber bei der Einwirkung mässiger Mengen Phosphat auf Carbonat selbst in der Wärme nicht vollständig (S. 32). Da das entstehende einfach saure Phosphat gegen Lackmus alkalisch reagirt, so erklärt sich, warum saurer Harn, aus welchem man die Kohlensäure austreibt, dabei alkalische Reaction annehmen kann.

C. *Nachweis.* Man leitet einen Strom mit Alkalihydrat gewaschene Luft erst durch den Harn und darauf durch klares Barytwasser; eine Trübung desselben zeigt die Kohlensäure an. Die gebundene Kohlensäure entweicht erst nach Zusatz einer Säure zum Harn. Sehr kohlensäurereiche (faule) Harne können auf Zusatz von Säure brausen.

9. Kieselsäure.

Die Kieselsäure findet sich nur in sehr kleiner Menge im Harn. Zu ihrer Auffindung schlägt man folgenden Weg ein. Eine nicht zu geringe Menge Harn wird in einer Platin- oder Silberschale verdampft und eingeäschert. Die erhaltene Asche mischt man mit einem Ueberschuss von chemisch reinem kohlensauren Natronkali und schmilzt einige Zeit lang im Platintiegel. Man löst darnach in Wasser, macht mit Salzsäure sauer und verdampft in einer Platinschale im Wasserbade zur staubigen Trockne. Zieht man den Rückstand mit Salzsäure und Wasser aus, so bleibt die Kieselsäure rein zurück.

Die so erhaltene Kieselsäure ist weiss, pulverig, ohne Geschmack und Geruch und knirscht zwischen den Zähnen. Sie löst sich weder in Wasser noch in Säuren auf, dagegen wird sie beim Kochen mit einer Lösung von kohlensaurem Natron vollkommen ohne Rückstand aufgenommen (Zeichen der Reinheit).

10. Salpetersäure und salpetrige Säure.

Nach den Untersuchungen von Wulffius[1] und von Schönbein[2] enthält jeder normale Harn geringe Mengen salpetersaurer Salze, die unzweifelhaft aus der genossenen Nahrung stammen, da ja alle Quell- und Flusswässer, sowie manche Gemüsepflanzen, Kohl, Spinat, Salat etc., kleine Mengen salpetersaurer Salze enthalten. Im frischen Harn kommt nur Salpetersäure vor, salpetrige Säure wurde von Schönbein, von Röhmann[3] und, bei der Untersuchung mehrerer hundert Harne von Gesunden und Kranken, auch von Karplus[4] nicht angetroffen, während sie Richter[5] wiederholt in frischgelassenem Harn gefunden zu haben angiebt. Sie bildet sich immer erst beim Stehen des Harns, und zwar durch Reduction

---

1) E. Wulffius, Ueber den Nachweis von Salpetersäure im Harn. Diss. Dorpat 1861.

2) Schönbein, Journ. f. prakt. Ch. **92**. 152. 1864.

3) F. Röhmann. Ztschr. f. physiol. Ch. **5**. 241. 1881.

4) J. P. Karplus, Centralbl. f. klin. Md. **14**. 577. 1893.

5) P. Fr. Richter, Fortschritte der Med. 12. 1895. 478; Centralbl. f. d. med. Wiss. 1895. 638; Chem. Centralbl. 1895. **2**. 176.

der Salpetersäure, nicht durch Oxydation des Ammoniaks (Röhmann). Von 150 unmittelbar nach der Entleerung salpetrigsäurefreien Harnen enthielten 70 die Säure innerhalb der folgenden 24 Stunden (Karplus). Sie findet sich in saurem, sowie in von Anfang an alkalischem Harn, in verschiedenen Mengen und verschieden lange Zeit, aber immer erst, wenn der Harn trüb wird; mit der Zunahme der Harnfäulniss verschwindet sie bald (Schönbein, Röhmann[1]).

Als Erreger dieser Harngährung fand Richter eine mittelgrosse Coccenart, Karplus einen Bacillus auf. Vorher hatte Röhmann die Wahrnehmung gemacht, dass Kloakenschlamm die Salpetersäure kräftig reducirt und Gayon und Dupetit[2]) haben in Kloakenwasser ein anaerobes Ferment dafür nachgewiesen und seine Lebensweise näher studirt.

A. Zum Nachweis der Salpetersäure können folgende Methoden dienen.

1. Nitrathaltiger Harn entwickelt beim Kochen mit Eisenchlorür und Salzsäure Stickoxyd. Dieses von F. Schulze[3]) zur quantitativen Bestimmung von Salpetersäure in Salzlösungen angegebene Verfahren liefert nach Röhmann auch beim Harn genaue Resultate.

2. Man destillirt 200 cc frischen Harn mit $^1/_6$—$^1/_5$ Vol. reiner concentrirter Schwefel- oder Salzsäure und weist in dem zweckmässig in Lauge aufgefangenen Destillat nach Weyl[4]) die dabei entstandene salpetrige Säure in folgender Weise nach:

a. Meta-Phenylendiamin bewirkt durch Bildung von Triamidoazobenzol Gelbfärbung.

b. Eine frisch bereitete wässrige mit verdünnter Schwefelsäure versetzte Pyrogallollösung färbt sich gelbbraun (B. 3.).

c. Man versetzt das Destillat mit etwas verdünnter Schwefelsäure, dann sofort mit einer Lösung von Sulfanilsäure und fügt nach 8—10 Minuten eine Lösung von salzsaurem α-Naphtylamin zu; bei Gegenwart von salpetriger Säure entsteht eine lichtbeständige Rothfärbung (Azobenzolnaphtylaminsulfosäure) (B. 5.).

d. Mit dem von Meldola[5]) entdeckten Körper giebt das Destillat auf Zusatz von Salzsäure und wenig Tropfen verdünntem Ammoniak eine blaue bis blaugrüne Färbung, die später gelbbraun wird.

e. Angesäuerte Jodkaliumstärke wird blau (unempfindliche Reaction) (B. 1.).

3. Nach Schönbein kann man sich von dem Gehalte des frischen Harns an salpetersauren Salzen leicht überzeugen, wenn man denselben mit Kali versetzt und eindampft. Aus dem Rückstande entwickelt Schwefelsäure Dämpfe, die den Jodkaliumkleister tief bläuen und Indigopapier bleichen. Aus dem im Rückstande befindlichen Gemisch von Chloriden und Nitraten entwickelt nämlich Schwefelsäure Chlor und Untersalpetersäure, und diese bewirken die angeführten Reactionen.

B. Die salpetrige Säure lässt sich nach Schönbein durch folgende Methoden nachweisen:

1. Mit verdünnter Schwefelsäure schwach angesäuerter Jodkalium- (Jodzink-) Kleister wird durch die geringste Menge salpetrigsaurer Salze tief blau gefärbt.

2. Eine angesäuerte Lösung von Pyrogallussäure wird durch salpetrigsaure Salze unter Entwickelung von Stickoxydgas braun gefärbt. Führt man die Reaction in einem Kolben aus, so geht das Stickoxydgas bei Berührung mit der Luft in Untersalpetersäure über, die einen in dem Kolben aufgehängten, mit Jodkalium- (Jodzink-) Kleister befeuchteten Papierstreifen bläut und Indigopapier entfärbt.

---

1) Schönbein, a. a. O. **92**. 156. **93**. 463. — Röhmann, a. a. O. 114.
2) Gayon und Dupetit, Comptes rendus **95**. 644. 1882.
3) F. Schulze: Fresenius, quantitative Analyse, 6. Aufl., **2**. 154.
4) Th. Weyl, Virchow's Archiv **96**. 467. 1884.
5) Meldola, Berichte d. chem. Gesellsch. **17**, 256.

3. Weyl erwärmte den Harn mit $^1/_5$—$^1/_4$ Vol. conc. Schwefelsäure in einem mit Papier bedeckten Kolben, der mit den Reagentien für A. 2. a, c. und e. benetzt war.

Auf den Harn anwendbar sind ferner folgende Reactionen.

4. Die Schäffer'sche Probe[1]). Eine Mischung von Nitrit und Ferrocyankalium wird auf Zusatz von Essigsäure, durch Bildung von Ferricyankalium (v. Deventer[2]) stark gelb.

5. Die Griess'che Azoreaction. Beim Erwärmen einer Lösung von Sulfanilsäure und Naphtylamin mit wenig Nitrit auf 70—80° färbt sich die Flüssigkeit rosenroth.

Die Reaction von Griess (5) ist nach Karplus empfindlicher als die von Schäffer (4), und diese wieder empfindlicher als die Jodprobe (1), was Jolles[3]) bestätigt. Die Jodprobe ist darum so wenig empfindlich, weil der Harn Jod bindet.

Kleine Mengen salpetriger Säure (0,1 mg in 20 cc) lassen sich nach Röhmann im Harn nicht nachweisen. Versuche zur Bestimmung der salpetrigen Säure im Harn nach der colorimetrischen Methode sind von Röhmann[4]) ohne befriedigendes Resultat vorgenommen worden.

Um nitritfreies Wasser für die Reagentienlösungen herzustellen, destillirt man nach Campbell[5]) Wasser mit einem Ueberschuss von alkalischer Permanganatlösung.

11. Wasserstoffsuperoxyd.

Dieser Körper wurde von Schönbein[6]) im Harn nachgewiesen. Zu seiner Erkennung dienen folgende Reactionen.

1. Wasserstoffsuperoxyd bleicht verdünnte Indigotinctur nur äusserst langsam, fügt man aber nur wenige Tropfen einer verdünnten Eisenvitriollösung hinzu, so wird die Mischung in kurzer Zeit vollständig entbläut.

2. Färbt man Wasser mit Indigotinctur bis zur Undurchsichtigkeit blau, versetzt mit etwas Salzsäure und tröpfelt nun eine Lösung von Mehrfachschwefelkalium unter Umrühren zu, so wird das Gemisch völlig entbläut. Hat man zur Bereitung dieses Reagenses nicht mehr Schwefelkalium verwendet, als genau zur Entbläuung der Indigotinctur erforderlich war, so wird das farblose und klare Filtrat durch Wasser, welches nur Spuren von Wasserstoffsuperoxyd enthält, noch deutlich und augenblicklich gebläut, sobald man dem Gemisch einige Tropfen verdünnter Eisenvitriollösung zufügt. Durch einen Ueberschuss von Wasserstoffsuperoxyd verschwindet jedoch die Bläuung wieder. Salpetrige Säure giebt dieselbe Reaction, der Harn, welcher geprüft werden soll, muss also ganz frisch sein.

3. Wasserstoffsuperoxyd bläut in säurefreier Lösung, ferner in saurer Lösung nach Traube[7]) wenn zugleich Kupfervitriol vorhanden ist, bei Gegenwart von Eisenvitriol den Jodkaliumkleister sogleich. Von dieser äusserst empfindlichen Reaction kann man jedoch beim Harn keinen Gebrauch machen, da jeder Harn ziemlich bedeutende Mengen von freiem Jod zu binden im Stande ist und mithin die Bläuung hier nicht eintreten kann.

---

1) G. C. Schäffer, Jahresb. f. Chemie 1851. 625.

2) Ch. M. v. Deventer, Ber. d. chem. Gesellsch. **26**. 589.

3) A. Jolles, Allg. Wiener med. Ztg. 1893. 509; Pharmac. Centralhalle **14**. 663; Ztschr. für analyt. Ch. **32**. 762.

4) Röhmann, a. a. O. 115.

5) E. D. Campbell, Journ. of the Amer. Chem. Soc. **18**. 35; Ch. Centralbl. 1896. **1**. 572.

6) Schönbein, Journ. f. prakt. Ch. **92**. 168. 1864.

7) M. Traube, Berichte d. chem. Gesellsch. **17**. 1062. 1884.

4. Eine andere sehr empfindliche Reaction ist auf Harn noch nicht angewendet worden. Schüttelt man Wasserstoffsuperoxyd mit Aether und einem Tropfen doppeltchromsaurem Kali, so färbt sich der Aether schön blau.

5. Das von Wurster zum Nachweis von Wasserstoffsuperoxyd empfohlene Tetramethylparaphenylendiamin ist dazu nicht geeignet, weil es durch viele andere Substanzen auch gebläut wird, nach Bokorny[1]) sogar durch sauerstoffhaltiges Wasser.

Nachweis. Zu etwa 200 cc frisch gelassenem Harn tröpfelt man so viel Indigolösung, bis das Gemisch eine deutlich grüne Farbe zeigt und theilt in zwei gleiche Theile. Setzt man zu der einen Hälfte jetzt 15—20 Tropfen einer verdünnten Eisenvitriollösung, so erscheint die Farbe bald heller grün oder bräunlich gelb, eine Farbenveränderung, welche selbstverständlich von einer theilweisen oder gänzlichen Zerstörung des Indigos herrührt, während dagegen die eisenfreie Hälfte ihre anfängliche grüne Farbe noch immer zeigt. — Lässt man ferner in 30 bis 40 cc frischen Harn 8—10 Tropfen durch Wasserstoffsupersulfid genau entfärbte Indigotinctur fallen, so bläut sich das Gemisch anfangs nicht, thut dies aber sofort beim Zufügen einiger Tropfen Eisenvitriollösung. — Schweflige Säure, welche das Wasserstoffsuperoxyd schnell reducirt, dem Harn in entsprechend kleiner Menge zugesetzt, verhindert beide Reactionen.

b. Basen.

Die Basen sind bereits theilweise bei der Abhandlung der Säuren besprochen worden; die folgenden Abschnitte ergänzen diese Angaben.

1. Kali und Natron.

A. *Vorkommen.* Nach den Untersuchungen von Salkowski, Stadelmann[2]), sowie Beckmann[3]) scheidet ein Erwachsener bei gemischter Nahrung in 24 Stunden 2,3—3,9 g Kali (K_2O) und 4,2—7,4 g Natron mit dem Harn aus. Im Menschenharn fand Wagner[4]) auf 100 K_2O 179 und 291 Na_2O, Munk 144 und 317 Na_2O. Die Mengen der im Harn erscheinenden Alkalien sind im hohen Grade abhängig von der Art der Nahrung und dem Ernährungszustand.

Bei der Ernährung mit Fleisch und Brod bestimmte Bunge[5]) in der Tagesmenge Harn 2,5 g Kali und 1,8 g Natron, bei fast ausschliesslicher Ernährung mit Fleisch 3,3 g Kali und 4,0 g Natron, mit Brod 1,3 g Kali und 3,9 g Natron. Zufuhr von phosphorsaurem oder citronensaurem Kali steigert erheblich die Ausscheidung des Natrons (und des Chlors) (Bunge[6]), Zufuhr von kohlensaurem oder citronensaurem Natron die des Kalis, aber in minderem Grade (Beckmann). — Von grösserem Einfluss ist selbstverständlich der Genuss gesalzener Speisen. Im Hunger sinkt nach Munk[4]) die Alkaliausscheidung mit dem Aufhören der

---

1) Bokorny, Berichte d. chem. Gesellsch. **21**. 1100. 1888.

2) Salkowski, Virchow's Archiv **53**. 209. 1871. — Stadelmann, Archiv. f. exper. Pathol. **17**. 433. 1885.

3) W. Beckmann, Unters. über den Einfluss des kohlens. u. citronens. Natrons auf die Ausscheidung der Alkalien. Diss. Dorpat 1889; Centralbl. f. d. med. Wiss. 1890. 266.

4) A. Wagner, Ztschr. f. Biol. **2**. 305. 1866. — I. Munk, Berliner klin. Wochenschr. 1887. 431; Virchow's Archiv **131**. Suppl. 152. 1893.

5) G. Bunge, Ztschr. f. Biol. **9**. 117. 1893; Lehrb. d. physiol. u. pathol. Ch. 2. Aufl. 1889. 314.

6) Bunge, Ztschr. f. Biol. a. a. O.

Kochsalzzufuhr und das Verhältniss zwischen beiden Basen kehrt sich um; wird wieder Nahrung genommen, so steigen die Alkalien nicht sofort zur ursprünglichen Höhe wieder an, aber das normale Verhältniss zwischen Natron und Kali stellt sich wieder ein. Der Reichthum der Pflanzen an Kalisalzen und der Mangel einer Beifütterung von Kochsalz sind die Ursache, dass beim Pflanzenfresser das Kali über das Natron stark vorwiegt. — Ein Hund schied bei der Fütterung mit Fleisch und Fett 1,86 g K_2O und 0,19 Na_2O aus (Jolin[1]).

Angestrengte Muskelthätigkeit kann die Ausscheidung des Kalis erhöhen (Munk[2]). — Im Fieber steigt die Ausscheidung des Kalis nach Salkowski[3]) um das 3—4 fache und darüber, während die Natronausscheidung bei hohem Fieber selbst auf ein Minimum sinkt. Bald nach dem Abfall des Fiebers steigt mit der wieder begonnenen Nahrungsaufnahme die Natronmenge wieder, oft sehr schnell, Kali dagegen wird nach Salkowski[4]) in der Convalescenz (nach Typhus) in geringerer Menge ausgeschieden als von einem Gesunden.

B. *Eigenschaften.* Die meisten Salze des Natrons und des Kalis sind leicht löslich. In saurer Lösung wird das Kali durch Phosphorwolframsäure gefällt. Von den Kalisalzen sind zum Nachweis derselben geeignet die Verbindung mit Platinchlorid, K_2PtCl_6, und das saure weinsaure Kali, $C_4H_5KO_6$.

Das Platinsalz entsteht bei Zusatz von Platinchloridlösung zu einer concentrirten, neutralen oder sauren Lösung eines Kalisalzes und bildet kleine gelbe Oktaëder, welche sich in Wasser schwer, in absolutem Alkohol nicht lösen, während das Chloroplatinat des Natriums (des Calciums und Magnesiums) in Alkohol leicht löslich sind. Das saure weinsaure Salz fällt auf Zusatz von Weinsäurelösung oder besser einer Lösung von saurem weinsauren Natron zu einer gleichfalls concentrirten neutralen oder alkalischen Lösung eines Kalisalzes in kleinen farblosen, in kaltem Wasser schwer löslichen Krystallen.

C. *Nachweis.* Das Natron lässt sich nachweisen, wenn man die beim Eindampfen des Harns auskrystallisirten Salze der Flammenprobe, besser noch der spectroskopischen Untersuchung unterwirft; es ist kenntlich an der gelben Farbe, welche es der Flamme ertheilt und am Auftreten der Linie D im Spectrum.

Zum Nachweis des Kalis kann man nach Heintz[5]) (100 cc) Harn mit etwas Salzsäure versetzen und darauf mit 2 Vol. eines klaren Gemisches von Alkohol und Aether nach gleichem Volumen, dem Platinchlorid zugesetzt war und das vorher einige Stunden gestanden hatte. Im Verlauf mehrerer Stunden setzt sich Kaliumplatinchlorid, aber gemischt mit Ammoniumplatinchlorid, in Oktaëdern ab, die namentlich unter dem Mikroskop leicht zu erkennen sind. — Nach Salkowski[6]) verdunstet man 100—150 cc Harn auf $^1/_8$ Volumen, filtrirt nach dem

---

1) S. Jolin, Skandin. Arch. **1**. 448. 1889.
2) I. Munk, Du Bois Archiv 1895. 386.
3) Salkowski, a. a. O. 221.
4) Salkowski, a. a O. **88**. 391. 1882.
5) Heintz, Poggendorff's Annalen **66**. 133; Würzburger med. Ztschr. **2**. 96. u. 230. 1861.
6) E. Salkowski, Pflüger's Archiv **2**. 351. 1869.

Erkalten und versetzt das Filtrat mit einer concentrirten Weinsäurelösung; beim Stehen an einem kalten Orte setzt die Flüssigkeit Krystalle von saurem weinsauren Kali ab.

2. Ammoniak.

A. *Vorkommen.* Der normale Harn enthält stets kleine Mengen Ammoniak, die aber abhängig sind von der Nahrung und der Thierspecies. Neubauer[1]) fand in Uebereinstimmung mit anderen Forschern im 24 stündigen Harn des Erwachsenen im Mittel 0,6--0,8 g Ammoniak. Die Grenzwerthe sind beim Gesunden ungefähr 0,3 und 1,2 g. Vom Gesammtstickstoff sind im Ammoniak des Harns nach Weintraud bei Gesunden unter gemischter Kost im Mittel 4,1 % (3,5—5,0), nach Rumpf[2]) im Mittel 4,64 % (3,2—7,7) nach Bohland[3]) im Fieber 5,72 %, nach Rumpf 6,7 %, im Stadium algidum der Cholera nach Rumpf 15—30 % enthalten.

Bei reichlicher Fleischkost wird nach Coranda[4]) mehr, bei vegetabilischer weniger Ammoniak ausgeschieden als bei gemischter Kost. Hunger vermindert die Ammoniakausscheidung. Ueber das Verhältniss des Ammoniaks zu anderen stickstoffhaltigen Harnbestandtheilen vergl. Harnstoff.

Wegen der Schnelligkeit, mit welcher der Harn in ammoniakalische Gährung gerathen kann, ergeben nur solche Untersuchungen richtige Werthe, welche mit ganz frischem oder mit sterilisirtem Harn angestellt werden. Schwarz[5]) fand in der Tagesmenge Harn von Gesunden und Kranken, welcher in Chloroform aufgefangen wurde, im Mittel 0,155 g (0—0,433 g) Ammoniak.

Im Kaninchenharn fehlt das Ammoniak (Salkowski), ebenso beim Pferd und beim Rind (Gumlich[6]). Im Harn der Frösche ist es von Nebelthau, in dem des Hundshais von Herter[7]) nachgewiesen worden. — Im Harn des Hundes fand Jolin das Verhältniss von Ammoniak zum Gesammtstickstoff wie 1 : 15,4, Bugarszky[8]) wie 1 : 15, bei der Katze Bugarszky wie 1 : 20 oder noch kleiner.

Während Zufuhr von fixen Alkalien nach Salkowski und Munk, die von organisch sauren Salzen (citronensaurem Natron) nach Beckmann[9]) die Ammoniakausscheidung vermindert, wird sie durch Zufuhr anorganischer oder solcher

---

1) Neubauer, Journ. f. prakt. Ch. **64**. 177.

2) W. Weintraud, Archiv f. exper. Pathol. **31**. 30. 1893. — Th. Rumpf, Virchow's Archiv **143**. 1. 1896.

3) K. Bohland, Pflüger's Archiv **43**. 68. 1888.

4) Coranda, Arch. f. exper. Pathol. **12**. 76. 1880.

5) E. Schwarz, Wiener med. Wschr. 3. 1893.

6) Gumlich, Ztschr. f. physiol. Ch. **17**. 19. 1892.

7) E. Nebelthau, Ztschr. f. Biol. **25**. 128. 133. 1889. — S. Herter, Mittheilungen aus der zoolog. Station zu Neapel **10**. 341; Jahresb. f. Thierch. 1891. 309.

8) S. Jolin, Skandiv. Archiv **1**. 449. 1889. — St. Bugarszky, Közlemények 1. 33. 1894; Jahresber. f. Thierch. 1894. 275.

9) Salkowski und I. Munk, Virchow's Archiv **71**. 504. — W. Beckmann, Ueber den Einfluss des kohlens. und citronens. Natrons auf die Ausscheidung der Alkalien. Diss. Dorpat 1889; Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1890. 266.

organischer Säuren, welche im Körper nicht zu Kohlensäure verbrennen, vermehrt beim Menschen und beim Hund, dagegen nicht beim Kaninchen. Auch Benzoësäureanhydrid und Benzylalkohol üben nach Jolin[1]) diese Wirkung aus. Kohlensaures Ammon aber, oder Ammonsalze mit solchen organischen Säuren, welche im Körper zu Kohlensäure oxydirt werden, erscheinen bei allen Thierspecies als Harnstoff im Harn. Die Bildungsstätte des Harnstoffs ist die Leber; dementsprechend geht bei ausgebildeten Leberkrankheiten, namentlich bei interstitieller Hepatitis im Verhältniss zum Harnstoff mehr (bis fast zum Vierfachen), auch absolut mehr (bis zum 2.6fachen) Ammoniak in den Harn über, als in der Norm; bei der amyloiden Degeneration der Leber und der bei der lienalen Leukämie auftretenden Lebererkrankung ist dagegen der Gehalt an Ammoniak relativ und absolut vermindert (Hallervorden, Stadelmann, Fawitzki[2]). In zwei schweren Fällen von Lebercirrhose gegen das Lebensende waren nach den Bestimmungen von Weintraud im Mittel 7,5 und 8,4 % des Gesammtstickstoffs Ammoniak vorhanden. Mit diesen Erfahrungen stimmen die Ergebnisse des Thierexperiments überein. Nach Ausschaltung der Leber aus dem Kreislauf durch Anlegen einer Eck'schen Fistel steigt nach Hahn und Nencki die Ausscheidung des Ammoniaks auf Kosten des Harnstoffs, namentlich bei Eintritt von Intoxikationserscheinungen; und Aehnliches beobachtete Lieblein[3]) nach theilweiser Verödung der Leber durch Schwefelsäure.

Wie die Zufuhr im Organismus unoxydirbarer Säuren, so wird auch die Bildung von Säuren jeder Art im Körper, wenn sie dem zerstörenden Einfluss des Organismus entgehen, steigernd auf die Ammoniakausfuhr einwirken, woraus sich das Auftreten grösserer Mengen Ammoniak im Harn bei manchen Zuständen zwanglos erklärt. Einer Zunahme der Acidität des Harns ist dadurch vorgebeugt.

Künstlich herbeigeführter Sauerstoffmangel führt zum Auftreten von Milchsäure im Harn (Araki) und zugleich zu vermehrter Ammoniakausscheidung (Reale und Boeri[4]). Bei fieberhaften acuten Krankheiten von längerer Dauer, und zwar entsprechend der Fieberhöhe, geht weit mehr Ammoniak in den Harn über, als beim Gesunden (Hallervorden, bis 5,93 g und noch weiter in der Convalescenz hinab (Rumpf[5]); bei Fieber erscheinen aber mehr Fettsäuren im Harn als bei Gesunden (v. Jaksch). Diabetiker liefern häufig mehr Ammoniak (Hallervorden, Stadelmann), namentlich beim Uebergang zur absoluten Fleichkost; bei einem Diabetiker betrug die Tagesmenge Ammoniak nach Minkowski 2—3,5 g, nach Wright[6]) in einem Fall sogar 4,6 g; auch erklärt sich daraus, dass sich bei Diabetikern die gesteigerte Ammoniakabgabe nach Einverleibung von Natriumcarbonat wieder vermindert (Wolpe[7]); hier bewirkt nicht ausschliesslich die Oxybuttersäure (Stadelmann), sondern auch die Acetessigsäure (Münzer und Strasser[8]) die Steigerung der Ammoniakmenge. — Die vermehrte Ammoniakausscheidung bei der Phosphorvergiftung (Badt,

---

1) Jolin, a. a. O. 442.

2) E. Hallervorden, Archiv. f. exper. Pathol. **12**. 274. 1880. — E. Stadelmann, Archiv f. klin. Med. **33**. 526. 1883. — A. P. Fawitzki. Deutsch. Archiv f. klin. Med. **45**. 429. 1889.

3) M. Hahn u. M. Nencki, Arch. des sc. biol. **1**. 461. 1892; Arch. f. exper. Pathol. **32**. 192. 1893. — V. Lieblein, Arch. f. exper. Pathol. **33**. 328. 1894.

4) Reale u. Boeri, Wiener med. Wochenschr. 1895. 1064; Rivista clin. e terap. Mai 1894; Jahresb. f. Thierch. 1894. 465.

5) Rumpf, a. a. O.

6) O. Minkowski, Arch. f. exper. Pathol. **18**. 37. 1884. — A. E. Wright, Jahresber. f. Thierch. 1891. 404.

7) H. Wolpe, Arch. f. exper. Pathol. **21**. 138. 1886.

8) E. Stadelmann, Deutsche med. Wochenschr. 46. 1889. — E. Münzer u. A. Strasser, Arch. f. exper. Pathol. **32**. 372. 1894.

Münzer[1]) bezieht Münzer auf eine vermehrte Säurebildung, doch mag hier die Ausschaltung der Leberfunction gleichfalls von Bedeutung sein, wie umgekehrt bei Leberkranken auch ein vermehrter Säureübergang in den Harn für die vermehrte Ammoniakausscheidung von Bedeutung sein wird.

Eine beträchtliche Vermehrung des Ammoniaks ist auch beobachtet von Rumpf bei Cholera im Stadium algidum (bis 2.075 g, aber auch nur 0,03 g), von Terray[2]) und seinen Mitarbeitern nach dem algiden Stadium, in grösserem Maasse im typhösen Stadium und reichliche Ausscheidung auch im Stadium typhosum. — Nephritis und chronische Krankheiten sind ohne Einfluss auf den Uebergang von Ammoniak in den Harn.

B *Eigenschaften.* 1. Die meisten Ammonsalze sind leicht löslich. Aus saurer Lösung wird das Ammoniak durch Phosphorwolframsäure (vollständig) gefällt. In gelinder Hitze verflüchtigen sie sich entweder unzersetzt oder unter Zersetzung. Sie entwickeln mit fixen Alkalien Ammoniak, kenntlich am Geruch und an der alkalischen Reaction des Gases.

2. Das kohlensaure Ammon verflüchtet sich schon in gewöhnlicher Temperatur, leichter beim Kochen seiner wässrigen Lösung; kohlensaures Ammon entweicht auch beim Erhitzen einer Lösung verschiedener Salze, in welcher die Bedingungen zur Bildung von kohlensaurem Ammon vorhanden sind, z. B. beim Kochen einer Lösung von Chlorammonium und kohlensaurem Natron, oder beim Kochen einer Lösung eines Ammonsalzes mit kohlensaurer Magnesia oder kohlensaurem Kalk. Phosphorsaures Ammon-Natrium, $(H_4N)NaHPO_4$, giebt gleichfalls bei 100° aus seiner Lösung Ammoniak ab und verwandelt sich dabei in das zweifach saure Natronphosphat, H_2NaPO_4.

3. Gegen Platinchlorid verhalten sich die Ammonsalze wie die Kalisalze. Saures weinsaures Natron fällt aus verdünnteren Lösungen von Ammonsalzen krystallinisches saures weinsaures Ammon; dasselbe ist gleichfalls schwer löslich, aber etwas leichter als das entsprechende Kalisalz. Das Ammonium-Platinchlorid, $(H_4N)_2PtCl_6$, sowie das saure weinsaure Ammon unterscheiden sich von den entsprechenden Kaliverbindungen aber dadurch, dass die Ammonverbindungen beim Uebergiessen mit einem Alkalihydrat Ammoniak entwickeln.

4. Nessler'sches Reagens (eine alkalische Lösung von Jodquecksilberkalium) fällt selbst Spuren Ammoniak braun.

5. Beim Schütteln von Benzoylchlorid mit Ammoniak wird bei jeder Concentration des Ammoniaks Benzamid gebildet, aus verdünnten Lösungen scheidet es sich aber nicht ab. (V. Lehmann[3]).

---

[1]) G. Badt, Centralbl. f. klin. Med. **13**. 251. 1892. — E. Münzer, daselbst **13**. 490. 1892; D. Arch. f. klin. Med. **52**. 199. 1894.

[2]) P. Terray, B. Vas u. G. Gara, Berl. klin. Wochenschr. 12. 1893.

[3]) V. Lehmann, Ztschr. f. physiol. Ch. **17**. 404. 1892.

Deshalb findet beim Behandeln von Menschenharn mit Lauge und Benzoylchlorid keine Abscheidung von Benzamid statt, wohl aber, wegen seines stärkeren Gehalts an Ammoniak, beim Hundeharn. Aether entzieht das Benzamid der Flüssigkeit.

C. *Nachweis.* Die Fähigkeit des Harnstoffs, leicht in kohlensaures Ammon überzugehen, kann zu Irrungen Anlass geben.

Beim Stehen des Harns bewirken Mikroorganismen diese Umwandlung. In wässriger Lösung verwandelt sich der Harnstoff zu einem kleinem Theil in cyansaures Ammon, um so schneller, je höher die Temperatur ist. Säuren und Basen zersetzen den Harnstoff unter Bildung von Ammoniak; dampft man Harnstoff mit zweifach saurem phosphorsauren Salz ein, so entsteht phosphorsaures Ammonalkali, welches fortwährend Ammoniak abgiebt (C. G. Lehmann). In der Kälte wird der Harnstoff durch Basen und Säuren nicht zersetzt, wenigstens nicht sofort; mit Barythydrat zersetzt er sich nach Wurster[1]) bei 50^0 nur äusserst langsam.

Das Ammoniak des Harns lässt sich leicht nachweisen, wenn man den Harn mit Kalkmilch alkalisch macht; das Ammoniak entweicht und lässt sich durch die Bläuung von feuchtem rothen Lackmuspapier erkennen, welches man in die Mündung des Gefässes taucht, das den Harn enthält. Kali- oder Natronlauge ist zu dem Nachweis des präformirten Ammoniaks nicht verwendbar, weil dieses auch aus andern stickstoffhaltigen Körpern als den Ammonsalzen Ammoniak frei macht. — Bei der Destillation von Harn mit kohlensaurer Magnesia oder kohlensaurem Kalk verflüchtigt sich das im Harn vorhandene Ammoniak als kohlensaures Ammon. — Uebergiesst man den Platinniederschlag, welchen man beim Nachweis des Kalis erhalten hat, mit Natronlauge, so entwickelt derselbe Ammoniak, das sich gleichfalls an der Bläuung von feuchtem rothen Lackmuspapier erkennen lässt.

Latschenberger[2]) versetzt Harn mit dem gleichen Volumen kalt gesättigter Kupfervitriollösung, neutralisirt mit Barythydrat und prüft das klare Filtrat mit Nessler'schem Reagens.

3. Kalk und Magnesia.

A. *Vorkommen.* Im 24 stündigen Harn des Erwachsenen finden sich nach Bestimmungen von Neubauer im Mittel 0,160 g Kalk (CaO), mit Schwankungen zwischen 0,12—0,25 und 0,18—0,28 g Magnesia, im Mittel 0,23 g.

Nur ein Theil des resorbirten (oder des direkt in das Blut gebrachten) Kalks wird durch den Harn ausgeschieden, der Rest durch den Darm (Wildt, Forster). Nach v. Noorden und Belgardt[3]) gelangt vom gesammten Kalk der Nahrung 4—29 % in den Harn. Die im Harn erscheinenden absoluten Mengen

---

1) C. Wurster, Centralbl. f. Physiol. 1887. 486.

2) J. Latschenberger, Monatshefte f. Chemie **5**. 132. 1884.

3) E. Wildt, Journ. f. Landwirthschaft **22**. 1; Chem. Centralbl. 1875. 74. — Forster, Archiv f. Hygiene **2**. 385. — v. Noorden und K. Belgardt, Berl. klin. Wochenschr. 10. 1894,

sind abhängig von der Nahrung. Bei der Ernährung mit Fleisch, Milch, Käse, Eiern und Brod schied Beckmann in der Tagesmenge Harn 0,49 g Kalk und 0,29 g Magnesia aus, bei der Ernährung mit Fleisch allein enthielt die 24 stündige Harnmenge nach Bunge[1]) 0,33 g Kalk und 0,29 g Magnesia, bei ausschliesslicher Ernährung mit Weizenbrod 0,34 g Kalk und 0,14 g Magnesia. Kinder entleeren im Alter von 3/4—3 3/4 Jahr nach Rüdel[2]) täglich mit dem Harn 40—80 mg Kalk. Schetelig[3]) schied in 24 Stunden 0,353—0,513 g Kalk aus. Von 390 mg einer mittleren Tagesmenge entfielen auf 1 Stunde Nachts 23 mg, Vormittags 8,4, Nachmittags 9,2 und Abends 21 mg. Schetelig nahm nur Mittags und Abends Nahrung zu sich. Das Trinken von viel Wasser erhöht die Kalkausscheidung. Bei mehrtägigem Hunger findet nach Munk[4]) nur eine mässige Zunahme des Kalks statt und zwar erscheint im Verhältniss zur Stickstoffausscheidung mehr Kalk im Harn als die zersetzten eiweissartigen Gewebe liefern können; der Rest entstammt einem kalkreicheren Gewebe (Knochensubstanz). Dasselbe gilt wahrscheinlich auch von der Magnesia. — Wenn Kranke (mit leichten chirurgischen Leiden) umhergehen, so scheiden sie nach G. Hoppe-Seyler[5]) bei gleicher Nahrung mehr Kalk aus als bei Bettruhe.

Krankheiten haben nach Schetelig keinen anderen Einfluss auf die Kalkabgabe als diejenige, welche durch die Inanition bedingt ist; bei Lungentuberkulose findet keine Vermehrung statt. Die Rachitis ist nach Seemann, Baginsky, sowie Rüdel[6]) ohne merkbaren Einfluss auf die Kalkausscheidung durch den Harn.

B. *Eigenschaften.* Zu den Eigenschaften der Salze der alkalischen Erden, welche schon bei den Säuren (Salzsäure, Schwefelsäure, Phosphorsäure, Kohlensäure), erwähnt worden sind, werden nachfolgende hinzugefügt.

1. Der oxalsaure Kalk ist in Wasser und verdünnter Essigsäure unlöslich, löst sich wenig in zweifach saurem Alkaliphosphat, leicht in Salzsäure und in Salpetersäure. Wenn er sich schnell abscheidet, bildet er ein feines Pulver, bei langsamer Ausscheidung krystallisirt er zumeist in tetragonalen Oktaëdern.

2. Der kohlensaure Kalk verliert beim Glühen einen Theil seiner Kohlensäure, im Gebläse alle; er wird zu CaO.

C. *Nachweis.* Der Niederschlag, welcher sich auf Zusatz von Ammoniak zu Harn sogleich bildet, besteht wesentlich aus normalem phosphorsauren Kalk und phosphorsaurer Ammon-Magnesia. Um in demselben oder in einem Sediment aus alkalischem Harn den Kalk und die Magnesia getrennt nachzuweisen, löst man den Niederschlag in Essigsäure, setzt etwas Salmiak und darauf eine Lösung von oxalsaurem Ammon zu, wodurch der Kalk als oxalsaurer gefällt wird, während die Magnesia in Lösung bleibt und dann aus dem Filtrat durch Zusatz von Ammoniak wieder als phosphorsaure Ammon-Magnesia niedergeschlagen werden kann. Ganz in gleicher Weise lässt sich mit dem Harn direct verfahren.

1) W. Beckmann, Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1890. 266. — G. Bunge, Lehrb. d. physiol. und path. Ch. 2. Aufl. 1889. 314.

2) G. Rüdel, Arch. f. exper. Pathol. **33**. 79. 1893.

3) Scheteling, Virchow's Archiv **82**. 437. 1880.

4) I. Munk, Berl. klin. Wochenschr. 1887. 432; Virchow's Arch. **131**. Suppl. 164. 1893.

5) G. Hoppe-Seyler, Ztschr. f. physiol. Ch. **15**. 161.

6) Seemann, Virchow's Archiv **77**. 308. 1879. — Baginsky, daselbst **87**. 301. 1882. — G. Rüdel, a. a. O. 90.

4. Eisen.

Das Eisen kommt im Harn nur in organischer Bindung vor, es lässt sich nur in der Harnasche nachweisen. Ueber die Natur dieser eisenhaltigen Verbindung ist nur sehr wenig bekannt. Kunkel fand in der mit Salzsäure aus Harn gefällten gefärbten Harnsäure eine geringe Menge Eisen, was Garrod[1]) bestätigt. Nach Garrod ist der Gehalt der von selbst ausgefallenen Harnsäure an Eisen noch grösser als der der mit Salzsäure niedergeschlagenen. Es handelt sich dabei aber immer nur um Spuren und der Eisengehalt steht in keinem auffälligen Verhältniss zur Färbung der Harnsäure. Nach Kobert[2]) widersteht die im Harn befindliche eisenhaltige Verbindung zerstörenden Einflüssen hartnäckig und lässt sich durch Behandeln mit chlorsaurem Kali und Salzsäure nicht vollständig zerlegen.

Magnier fand im Liter Harn eines gesunden Mannes im Mittel aus 14 Bestimmungen 7 mg (3—11 mg) Eisen, Gottlieb in der Tagesmenge Harn von Gesunden und Nervenkranken mit ungestörter Verdauung im Mittel aus 5 Bestimmungen 2,59 (1,59—3,69) mg, Hopkins[3]) in der Tagesmenge normalen Harns 3,7 mg, Colasanti und Jacoangelli, welche nach dem Verfahren von Hamburger arbeiteten, vermissten das Eisen nie im Harn und bestimmten im normalen Harn im Mittel 2,3 (1,4—3,1) mg in der Tagesmenge.

Damaskin fand in der Tagesmenge im Durchschnitt 1 mg mit beträchtlichen Schwankungen, Hall in seinem Harn nie mehr als 0,5 mg im Tag, unter dem Gebrauch von (eisenhaltigem) Carniferrin nie mehr als 0,7 mg und während 7 Tagen sogar keins und Lapicque[4]) konnte nur Spuren nachweisen, so dass er das Vorkommen von Eisen im Harn überhaupt bezweifelt.

Bei Fieber ist nach Colasanti und Jacoangelli im Allgemeinen mehr Eisen im Harn als bei Gesunden, die Menge entspricht stets der Höhe und der Dauer des Fiebers, am Meisten findet sich aber bei Malaria (bis 16 mg). — Bei perniciöser Anämie fand Hopkins an einem Tage 8,3 mg und einige Tage später nur Spuren.

In dem Harn eines 8 kg schweren Hundes bestimmte Hamburger[5]) bei Fütterung mit 300 und 500 g Fleisch täglich rund 3,5 mg Eisen, Cloetta im Harn zweier Hunde, von welchen jeder täglich nur 1,5 l Milch erhielt, täglich 0,7 bis 1,0 mg und Gottlieb bei der Fütterung eines 8,95 kg schweren Hundes mit

---

[1]) Kunkel, Sitzungsber. d. physik. med. Gesellsch. zu Würzburg 1881. 69; Jahresber. f. Thierch. **11**. 246. — Archibald E. Garrod, Journ. of Pathol. and Bacteriol. November 1894. 104.

[2]) Kobert, Arbeiten aus dem pharmakol. Institut in Dorpat **7**. 1891; Jahresber. f. Thierch. 1891. 383.

[3]) Magnier, Berichte d. chem. Gesellsch. **7**. 1796. — R. Gottlieb, Arch. f. exper. Pathol. **26**. 142. 1890. — F. G. Hopkins, Guy's Hospital Reports **50**. 371. 1894.

[4]) G. Colasanti und T. Jacoangelli, Riforma med. 1894; Jahresb. f. Thierch. 1894. 582. — Damaskin, bei Kobert a. a. O. — W. S. Hall, Du Bois Archiv 1894. 473. — L. Lapicque, Bull. de la Soc. chim. [3] **13**. 281. 1895.

[5]) E. W. Hamburger, Ztschr. f. physiol. Ch. **2**. 199. 1878. — M. Cloetta Archiv f. exper. Pathol. **37**. 71. 1895. — R. Gottlieb, Ztschr. f. physiol. Ch. **15**. 374. 1891.

100 g Stärkekleister, 50 g Schmalz und 50 g frischem Caseïn in 9 Tagen 10,2 mg Eisen.

B. *Eigenschaften.* 1. Schwefelammonium erzeugt in Eisenoxydul- und Eisenoxydlösungen einen schwarzen, in Salz- und Salpetersäure leicht löslichen Niederschlag von Schwefeleisen.

2. Ferrocyankalium erzeugt in Eisenoxydlösungen einen tief blauen Niederschlag von Eisen-Ferrocyanid (Berlinerblau). In Eisenoxydullösungen ist der Niederschlag bläulich weiss und besteht aus Kaliumeisenferrocyanür.

3. Schwefelcyankalium verändert Eisenoxydullösungen nicht, in Eisenoxydlösungen aber bringt es eine intensiv rothe Färbung (Eisenrhodanid) hervor.

4. Setzt man zu einer sauren (schwefelsauren) Lösung eines Eisenoxydulsalzes eine Lösung von übermangansaurem Kali, so geht das Eisenoxydul vollkommen in Eisenoxyd über, ist dieser Punkt erreicht, so bewirkt der nächste Tropfen der Lösung des übermangansauren Kalis eine schön rothe Färbung der Flüssigkeit.

C. *Nachweis.* Zur Auffindung und Erkennung des Eisens wählt man immer die Asche des Harnrückstandes. Dieselbe wird in wenig Salzsäure aufgelöst und die Lösung zweckmässig in zwei Theile getheilt. Die erste Hälfte kocht man mit einem Tropfen Salpetersäure und versetzt darauf mit so viel Schwefelcyankalium, dass sämmtliche vorhandene Säure an das Kali des Rhodanids gebunden sein kann. Bei den geringsten Mengen von Eisenoxyd nimmt die Flüssigkeit eine röthliche Farbe an, die bei grösseren Mengen tief dunkelroth wird. Bei Spuren von Eisenoxyd sieht man die Färbung am Deutlichsten, wenn man das Röhrchen auf eine weisse Unterlage stellt und von oben hineinblickt. Setzt man statt Schwefelcyankalium zu der zweiten mit Salpetersäure gekochten und verdünnten Flüssigkeit gelbes Blutlaugensalz, so scheiden sich nach einigem Stehen blaue Flocken von Berlinerblau ab. Ist die Eisenmenge bedeutender, so fällt sogleich das Berlinerblau mit schön blauer Farbe nieder. Weil die im Harn vorkommenden Mengen Eisen nur sehr gering sind, so ist es durchaus nöthig, nur absolut eisenfreie Salz- und Salpetersäure zu den Reactionen zu verwenden (vgl. die quantitative Bestimmung des Eisens).

c. Die Gase des Harns.

Aus einem Liter Menschenharn lassen sich durch Evacuiren unter Erwärmung des Harns nach Planer, Pflüger, Ewald sowie Morin[1]) 100—200 CC. Gas gewinnen, in welchem auf gasanalytischem Wege 83—95 Vol. % CO_2, 0,5 % Sauerstoff und 6—16 % Stickstoff gefunden wurden. Der völlig ausgepumpte Harn enthielt noch etwas gebundene Kohlensäure.

Bei einem zuckerhaltigen Harn, welcher in der Blase gohr, fand Fr. Müller[2]) das aus der Blase gewonnene Gas bei der Analyse zweier Portionen zusammengesetzt aus 9,2—19,8 % CO_2, 0—0,23 O_2, 33,5—35,6 % N_2, 44,3—57,3 H_2 und 0,09—0,79 CH_4.

---

1) J. Planer, Zeitschr. der Gesellsch. der Wiener Aerzte 1859. 465; Canstatt's Jahresb. 1859. 1. 243. — Pflüger, dessen Archiv 2. 165. 1869. — Ewald, Archiv f. Anat. u. Physiol. 1873. 1. — Morin, Journ. de chim. et de pharm. 45. 396. 1864.

2) Fr. Müller, Berliner klin. Wochenschr. 41. 1889. 889.

B. Organische.

I. Alkohole, Aether, Aldehyde, Ketone.

§ 3. Methylmercaptan.



$CH_3 . SH$.

Syn. Methylsulfhydrat, Methylhydrosulfid, Thiomethylalkohol.

A. *Vorkommen.* Das Methylmercaptan, nach M. Nencki und Sieber sowie Selitrenny ein Fäulnissprodukt des Eiweisses und des Leims und wahrscheinlich (L. Nencki[1]) constanter Bestandtheil der Dickdarmgase, ist von Nencki[2]) im Harn in Spuren nach dem Genuss von Spargel nachgewiesen worden. Karplus[3]) sah es im Harne bei der Vegetation eines Schwefelwasserstoff bildenden Bakteriums in demselben auftreten.

B. *Eigenschaften.*

Das Methylsulfhydrat ist von Klason[4]) in reinem Zustand dargestellt und von ihm, sowie von Rubner[5]) in Gemeinschaft mit Niemann und Stagnitta-Balistrani untersucht worden.

1. Farblose, widerlich riechende, bei 5,8° siedende Flüssigkeit, bei gewöhnlicher Temperatur also gasförmig (Kl.).

2. Verbindet sich mit Metallen. Eine Lösung des Mercaptans in Alkalihydrat besitzt nur einen schwachen Geruch. Mit den schweren Metallen bildet es Niederschläge.

a. Bleimercaptid $(CH_3 . S)_2 Pb$, entsteht als krystallinischer citronengelber Niederschlag beim Einleiten des Gases in eine Bleiacetatlösung (K.) oder beim Mischen einer alkalischen Mercaptanlösung mit Bleiacetat (R.). Verwandelt sich meist in bräunliche Tafeln (R.). In Wasser, Alkohol, Aether unlöslich, aber in erheblichem Maasse löslich in Bleiacetatlösung (R.). Beim Waschen mit Alkohol werden die braunen Krystalle etwas dunkler, beim Waschen mit Aether citronengelb (R.). In trocknem Zustand gegen Wärme sehr widerstandsfähig (R.), zerfällt aber beim Erhitzen zuletzt in Methylsulfid und Schwefelblei (K.). Geht in feuchtem Zustand in das Mercaptan und in Bleihydrat über (K.) und zersetzt sich in dieser Weise vollständig beim Kochen mit Wasser (R.). Mineralsäuren entwickeln aus ihm das Mercaptan (K.). Im Licht wird die Verbindung nach Klason geschwärzt, nach Rubner dagegen nicht. — Bei gleichzeitiger Gegenwart von Schwefelwasserstoff ist der Niederschlag röthlich oder röthlich braun und wird leicht schwarz (R.). Bleipapier färbt sich in dem Gase gelbbräunlich, dann bald braun und endlich schwarz (R).

b. Quecksilbermercaptid $(CH_3 . S)_2Hg$ fällt beim Einleiten des Gases in eine Quecksilbercyanidlösung in Form mikroskopischer vierseitiger Prismen (K.); der Niederschlag ist weiss und einer Kalkseife ähnlich (R.). Die Fällung ist auch in Gegenwart von viel Quecksibercyanid nahezu vollständig (R.). Beinahe unlöslich

---

1) M. Nencki u. Sieber, Monatsh. f. Ch. **10**. 526. 1890. — L. Selitrenny, daselbst **10**. 908. — L. Nencki, daselbst **10**. 862.

2) M. Nencki, Arch. f. exper. Pathol. **28**. 206. 1891.

3) J. P. Karplus, Virchow's Archiv **131**. 221. 1893.

4) P. Klason, Ber. d. chem. Gesellsch. **20**. 3408. 1887.

5) M. Rubner, Arch. f. Hygiene **19**. 136. 1893.

in Methyl- und in Aethylalkohol. Schmilzt bei 175° unter Zersetzung. Wird durch Salzsäure in der Kälte zu $CH_3 . S - HgCl$ zersetzt, wobei die Hälfte des Mercaptans frei wird. Dieselbe Verbindung entsteht auch als körniger Niederschlag bei der Einwirkung des Mercaptans auf Quecksilberchlorid. Bei der Behandlung des Quecksilbermercaptids mit essigsaurem Quecksilber geht dasselbe nach Bertram[1]) als eine Verbindung von 1 Mol. Mercaptid mit 2 Mol. Quecksilberacetat in Lösung; Quecksilberchlorid schlägt aus der Lösung nahezu alles Mercaptan in Form der chlorhaltigen Verbindung nieder.

c. Goldchlorid, Platinchlorid, Palladiumchlorid werden durch das Mercaptan sofort gefällt, Palladium besonders leicht in Gegenwart von etwas Salpetersäure. Der Platinniederschlag löst sich in Alkohol und in Aether. Die Palladiumverbindung $(CH_3 . S)_2 Pd$ wird bei Erhitzen heller, ziegelroth. Das Goldsalz hat die Zusammensetzung $(CH_3 . S)_3 Au$ (R.).

d. Es sind auch ähnliche unlösliche Verbindungen des Mercaptans mit Wismuth, Silber (K.) und Kupfer (R.) dargestellt worden. Eisensalze, auch organische, geben mit dem Mercaptan keine Niederschläge (R.).

3. Farbenreactionen.

a. Isatinschwefelsäure (eine Auflösung von Isatin in concentrirter Schwefelsäure) wird nach Denigès[2]) durch Methylmercaptan, wie durch die Mercaptane überhaupt, schön grün gefärbt. Die Alkylsulfide, schweflige Säure, Schwefelwasserstoff geben diese Reaction nicht, die höheren Aldehyde oder Alkohole zerstören oder verdecken die Färbung.

b. Eine alkalische Nitroprussidnatriumlösung wird durch Methylmercaptan (und andere Mercaptane) violettroth (Denigès[2]). Beim Stehen, sowie beim Ansäuern mit organischen oder anorganischen Säuren wird die Probe (mit Aethylmercaptan) nach Béla[3]) gelb, die angesäuerte Probe beim Uebersättigen mit Alkali wieder violettroth. Die Färbung ist gleich der durch Sulfide hervorgerufenen. Die Alkoholsulfide und die schweflige Säure sind nach Denigès ohne Einwirkung auf das Reagens, nach Béla wird es aber durch Aethylsulfid roth.

c. Durch Jod wird das Methylhydrosulfid nach Rubner[4]) zu Disulfid oxydirt nach $2 CH_3 . SH + J_2 = CH_3 . S - S . CH_3 + 2 HJ$. Diese Reaction ist zur quantitativen Bestimmung des Mercaptans geeignet.

C. *Nachweis.*

Auf den Geruch allein darf man sich beim Nachweis des Mercaptans nicht verlassen. Die Reagentien sind von ungleichem Werthe; am Wenigsten empfindlich ist nach Rubner[5]) eine concentrirte Bleizuckerlösung, wegen der Löslichkeit des Bleimercaptids im Reagens, besser geeignet ist eine 3 %ige Bleiacetatlösung; dann folgen, mit zunehmender Empfindlichkeit, eine mit wenig Salzsäure versetzte Quecksilbercyanidlösung, Isatinschwefelsäure, Gold- und Platinchlorid. Diese Edelmetalle zeigen noch den hundertsten Theil der durch concentrirte Bleizuckerlösung erkennbaren Menge an. Die geringste noch nachweisbare Menge beträgt 0,06 mg. Ueber die Empfindlichkeit des Nitroprussidnatriums liegen keine Erfahrungen vor.

---

1) A. Bertram, Berichte der chem. Gesellsch. **25**. 64. 1892.
2) G. Denigès, Comptes rendus **108**. 350. 1889.
3) Béla v. Bittó, Annal. d. Ch. **267**. 379. 1892.
4) Rubner, a. a. O. 154.
5) Rubner, a. a. O. 145.

Bei dem Nachweis des Mercaptans im Harn verfuhr M. Nencki in der Weise, dass er den gesammten zur Verfügung stehenden Harn nach reichlichem Zusatz von Oxalsäure der Destillation unterwarf und die entweichenden Gase durch eine 3 proc. Quecksilbercyanidlösung leitete. Der entstandene Niederschlag wurde gewaschen und mit einigen Cubikcentimetern 5 proc. Salzsäure aus einem Reagensglas destillirt. In der vorgelegten Bleiacetatlösung entstand an den Wänden des Gasleitungsrohres wie am Boden des Gefässes ein gelber krystallinischer Niederschlag.

Rubner empfiehlt das Durchsaugen von Luft während der Destillation für die vollständige Gewinnung des Mercaptans. Den Dampf condensirt er durch ein Kühlrohr, sammelt das Destillat in einer Woulff'schen Flasche auf und lässt nur das Gas durch die Quecksilberlösung streichen; nach Beendigung der Destillation muss aber noch Luft durch die Flüssigkeit in der Vorlage getrieben werden. — Nachdem Nencki von dem Harn ungefähr 50 cc abdestillirt hatte, nahm der Niederschlag nicht mehr zu.

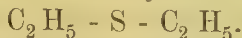
Die Quecksilbercyanidlösung kann gesättigt sein. Für die vollständige Absorption des Mercaptans ist als Vorlage ein Kölbchen oder ein (Peligot'sches) U-Rohr nicht geeignet. Rubner verwendet dazu ein Pettenkofer'sches Barytrohr (ein schräg liegendes langes und weites Rohr). Ein Kugelapparat dürfte dasselbe leisten. Der Quecksilberniederschlag braucht nicht weiss zu sein, wie bei der Bildung desselben aus reinem Mercaptan; mitgefälltes Schwefelquecksilber bleibt aber bei der nachfolgenden Destillation mit Salzsäure unzersetzt zurück.

Charakteristisch für das Mercaptan ist die gelbe Farbe und die krystallinische Beschaffenheit (Tafeln und Prismen) des Bleiniederschlags. Da das Bleimercaptid in Bleiacetatlösung löslich ist, so entgeht ein Theil des Sulfhydrats dem Nachweis. Nach Rubner ist eine 3 proc. Bleiacetatlösung die geeignetste. Für eine Bleibestimmung im Niederschlag dürfte die Menge desselben nur selten ausreichen. Man führt sie aus, indem man den Niederschlag mit Schwefelsäure benetzt, die Schwefelsäure abraucht und den Rückstand glüht. Bleimercaptid enthält 68,76 % Pb und liefert 100,66 % $PbSO_4$.

Die Isatinschwefelsäure wendet man zum Nachweis des Methylmercaptans nach Rubner am Besten in der Weise an, dass man das mittelst Chlorcalcium getrocknete Gas über Thontäfelchen streichen lässt, welche mit der Isatinschwefelsäure getränkt sind. Der von der Isatinschwefelsäure gelbröthliche Thon färbt sich bei Gegenwart des Mercaptans grün; später geht die Farbe in graublau über. Lässt man das Gas in die Isatinschwefelsäure selbst eintreten, so nimmt man die Grünfärbung am Besten da wahr, wo die Flüssigkeit eine dünne Schicht bildet (am Gasleitungsrohr, an der Wand des Gefässes). Aus dem Reagens lässt sich nach dem Verdünnen ein Theil des Mercaptans durch Destillation wieder gewinnen.

Bei der Verwendung alkalischer Nitroprussidnatriumlösung schliesst man einen Irrthum durch gleichzeitig auftretenden Schwefelwasserstoff nach Denigès in der Weise aus, dass man die Nitroprussidlösung mit etwas einer Auflösung von Bleihydrat in Natron- oder Kalilauge versetzt. Der Schwefelwasserstoff wird dann als Schwefelblei abgeschieden.

§ 4. Aethylsulfid.



$C_2H_5 - S - C_2H_5$.

A. *Vorkommen.* Die widerlich riechende Substanz, welche auf Zusatz von Kalkmilch oder Alkalihydrat zu Hundeharn auftritt, ist nach der erschöpfenden Untersuchung von Abel[1]) Aethylsulfid. Die Verbindung, aus welcher das Sulfid entsteht, ist nicht bekannt. Nach

[1]) John J. Abel, Ztschr. f. physiol. Chemie 20. 253. 1894.

der Fütterung mit Fleisch allein scheint der Harn entschieden mehr davon zu liefern, als nach gemischtem Futter.

B. *Eigenschaften.*

Von den Eigenschaften der Substanz wird hier nur so viel erwähnt, als zur Kennzeichnung derselben und für ihren Nachweis erforderlich ist. Abel hat einige neu aufgefundene Eigenschaften des Harnsulfids mit denen des synthetisch erhaltenen Sulfids verglichen.

1. Das Aethylsulfid bildet eine eigenthümlich unangenehm riechende, bei 92—93° siedende Flüssigkeit. Sie löst sich nur wenig in reinem oder in angesäuertem Wasser, wird aber von concentrirter Schwefelsäure in ziemlich grosser Menge gelöst. Diese Lösung ist geruchlos, entwickelt aber beim Eintragen von Eis in dieselbe oder beim Verdünnen mit 4proc. auf 0° abgekühlter Schwefelsäure den Geruch nach dem Sulfid.

2. Eine wässrige, alkoholische oder ätherische Lösung des Aethylsulfids giebt mit Quecksilberchlorid einen aus Nadeln bestehenden Niederschlag, der nach dem Waschen mit Wasser und mit Alkohol aus wenig heissem Alkohol in langen schmalen stark lichtbrechenden Prismen krystallisirt. $(C_2H_5)_2S, HgCl_2$. Die reine Verbindung schmilzt bei 119° (Abel); aus den geschmolzenen farblosen Tropfen schiessen beim Erkalten schöne lange Prismen hervor. An der Luft verlieren die Krystalle und über Schwefelsäure auch die gepulverte Substanz Aethylsulfid unter Erhöhung des Schmelzpunktes.

3. Aethylsulfid verbindet sich nach Letts leicht mit Bromessigsäure zu dem Bromid der Aethylsulfinessigsäure $Br-(C_2H_5)_2 . S . CH_2 . COOH$, einem Thetin, nach Drechsel[1]) auch wenn sich die Bromessigsäure in wässriger Lösung befindet. Die Lösung des Bromids lässt sich nach Drechsel einige Zeit ohne Zersetzung kochen, entwickelt aber beim Kochen mit Natronlauge Aethylsulfid; aus seiner Lösung wird das Bromid durch Phosphorwolframsäure gefällt.

4. Leitet man den Dampf des Sulfids zugleich mit Sauerstoff durch glühenden Asbest, so bildet sich Schwefelsäure.

5. Versetzt man eine Lösung des Sulfids unter gleichzeitigem Verdünnen mit einer concentrirten Permanganatlösung und vollendet die Reaction zuletzt durch Erwärmen, so entsteht Essigsäure und Schwefelsäure; die Essigsäure wird dabei theilweise zu Kohlensäure weiter oxydirt.

6. Durch Salpetersäure von 1,2 Dichte wird das Aethylsulfid zu Aethylsulfoxyd $(C_2H_5)_2SO$ oxydirt, in freiem Zustand eine dickflüssige, in Wasser leicht lösliche, leicht zersetzliche Verbindung, aus welcher sich durch Zink und Schwefelsäure das Sulfid wieder herstellen lässt. Durch rauchende Salpetersäure wird das Sulfid dagegen zu Diäthylsulfon $(C_2H_5)_2SO_2$ oxydirt, rhombische, in Wasser leicht lös-

---

1) E. A. Letts, Jahresber. f. Ch. 1878. 683. — E. Drechsel, Centralbl. f. Physiol. **10** 529. 1896.

liche Tafeln vom Schmelzpunkt 70° und Siedepunkt 248°; diese Verbindung liefert beim Behandeln mit Zink und Schwefelsäure das Sulfid nicht wieder.

7. Mit Brom und mit Jod bildet das Sulfid die dem Sulfoxyd analogen Verbindungen $(C_2H_5)_2SBr_2$ und $(C_2H_5)_2SJ_2$.

a. Setzt man nach Abel einige Tropfen einer ungefähr 2proc. Lösung von Brom in Bromkalium zu einer Lösung des Sulfids in concentrirter Schwefelsäure oder rührt man Bromdampf in die vorher mit einigen Tropfen Wasser verdünnte schwefelsaure Lösung, so wird in einiger Zeit, bei Gegenwart von etwas grösserer Menge Sulfid erst in einigen Tagen, das Sulfid vollständig in die Bromverbindung übergeführt. Die Mischung riecht nach dem Verdünnen nicht mehr nach dem Sulfid; Zink macht aber das Sulfid wieder frei. Fügt man der bromhaltigen Lösung Jodkalium hinzu, so scheidet sich das schwarze ölige Jodid ab.

b. Die Verbindung des Sulfids mit Jod erhält man direkt, wenn man der Lösung des Sulfids in Schwefelsäure einige Tropfen einer ungefähr 0,05 normalen Lösung von Jod in Jodkalium hinzusetzt. Es bildet sich ein äusserst fein vertheilter Niederschlag, der lange suspendirt bleibt, sich aber endlich in Form schwarzbrauner öliger Tröpfchen absetzt. Dieser Niederschlag löst sich nicht in Wasser, entwickelt aber in Berührung mit Wasser den Geruch nach dem Sulfid. Lauge löst den Niederschlag farblos gleichfalls unter Rückbildung des Sulfids.

Diese Reaction tritt in Gestalt einer schimmernden Wolke noch mit Spuren Aethylsulfid ein, mit der geringen Menge Sulfid, die sich beim Schütteln von 50 cc Wasser mit 1—2 Tropfen des Sulfids löst, oder mit dem Destillat mit Kalkmilch versetzten Hundeharns. — Eine ähnliche wolkige Trübung geben mit dem Reagens nach Abbott auch wässrige Lösungen primärer Amine.

8. Salpetrige Säure färbt eine Lösung von Aethylsulfid in Schwefelsäure tief grün; die Färbung verschwindet beim Stehen der Mischung oder durch einen Ueberschuss von salpetriger Säure. Die grüne Lösung entwickelt beim Verdünnen noch den Geruch des Sulfids, die farblos gewordene aber erst nach der Behandlung mit Zink.

Man kann die Reaction mit der Lösung eines Nitrits anstellen, zweckmässiger aber ist die Anwendung von Nitrososchwefelsäure, weil man mit dieser weniger Gefahr läuft, durch einen Ueberschuss die Färbung zu zerstören. Dieses Reagens erhält man nach Liebermann[1], indem man in englische Schwefelsäure ungefähr 8% eines Nitrits einträgt, 6—7% Wasser hinzufügt und das auskrystallisirte Product auf Glaswolle abfiltrirt.

Die Reaction ist nicht sehr empfindlich und gelingt gut nur mit derjenigen Menge Sulfid, die man nach dem unter C beschriebenen Verfahren in einem vollen Tag aus 5—6 Liter Hundeharn gewinnen kann.

Das Liebermann'sche Reagens giebt eine ähnliche Färbung mit Thiophen; aber hier geht die Grünfärbung bald in blau, dann in purpur über. Mit einer Lösung von Thiophen in Schwefelsäure versagt die Reaction bald, weil sich Thiophensulfonsäure bildet. Uebrigens fehlt beim Thiophen der Geruch des Aethylsulfids. — Die Mercaptane geben die Reaction nicht.

C. *Darstellung.* Man entzieht Hundeharn, der mit Kalkmilch versetzt ist, durch einen Luftstrom das Sulfid und fängt es in concentrirter Schwefelsäure auf. Die aus dem Harn austretende Luft muss von anderen Beimengungen befreit und sorgfältig getrocknet werden, weil schon mässig verdünnte Schwefelsäure das Sulfid erheblich schlechter bindet, wie concentrirte. Auch soll die Luft in den mit der Schwefelsäure beschickten Geissler'schen Apparat nur mit einer Geschwindigkeit wie bei der Elementaranalyse eintreten, weil sonst Verluste stattfinden können.

[1] C. Liebermann, Berichte d. chem. Gesellsch. **20**. 3232. 1887.

Abel leitet die mittelst einer Saugpumpe durch den Harn getriebene Luft durch zwei Waschflaschen mit 10 proc. Salzsäure, dann durch zwei Waschflaschen mit 40 proc. Natronlauge, durch ein 30 cm hohes, 2,5 cm weites U-Rohr mit Kalihydratstücken, durch ein ebensolches Rohr mit granulirtem Chlorcalcium und dann erst in die Schwefelsäure.

Abel hat das Gas aus zwei Waschapparaten mittelst eines T-Rohrs durch einen Geissler'schen Apparat geleitet, immer nur 2 Liter Harn auf einmal verwendet, diesen aber gewechselt und in 72 Stunden 15—20 Liter Harn verarbeitet. Die Ausbeute ist jedoch nur mässig.

Vielleicht lässt sich eine wässerige Lösung von Bromessigsäure mit mehr Vortheil zum Auffangen des Sulfids verwenden.

D. *Nachweis.* Auffällig ist das Aethylsulfid schon durch seinen widerlichen Geruch. Von Reactionen sind namentlich zwei hervorzuheben, die mit Jod und die mit salpetriger Säure. Am Empfindlichsten ist die Reaction mit Jod (B. 7. b), doch ist sie, da primäre Amine eine ähnliche geben, nur bei Abwesenheit solcher auf die Gegenwart von Aethylsulfid zu beziehen. Nach Schiffer[1]) entwickelte Hundeharn mit Kalkmilch Methylamin und das Auftreten der Jodreaction in solchem, nicht weiter gereinigten Harndestillat wäre somit für die Gegenwart des Aethylsulfids nicht beweisend. Die Reaction mit salpetriger Säure (B. 8) erfordert grössere Mengen Substanz und kann durch einen Ueberschuss an Reagens leicht verdorben werden: doch kann man sie bei vorsichtiger Verwendung der Nitrososchwefelsäure auch noch mit geringeren Mengen Aethylsulfid, wie in dem angeführten Beispiel, erhalten. Die Quecksilberchloridverbindung liesse sich aus Harn zwar leicht, aber nur schwer in genügend reinem Zustande erhalten.

Die Schwefelsäure, welche das Harnsulfid aufgenommen hatte, verdünnte Abel unter Abkühlung mit 4 proc. Schwefelsäure so weit, dass sie nur noch 30% Säure enthielt, schüttelte mit Aether aus, wusch den Aether zweimal mit Wasser, versetzte ihn mit alkoholischer Quecksilberchloridlösung, dampfte erst auf dem Wasserbad auf zwei Drittel ein und trocknete vollends im Vacuum. Der stark nach Aethylsulfid riechende Rückstand wurde durch Waschen vom überschüssigen Quecksilberchlorid befreit, abermals über Schwefelsäure getrocknet und in wenig heissem Alkohol gelöst. Es schieden sich lange schmale stark glänzende Prismen aus, die noch mit amorpher Substanz verunreinigt waren. Sie schmolzen nach dem Trocknen, nicht wie die reine Verbindung bei 119°, sondern einmal bei 145°, ein ander Mal bei 150°, und zwar zu schwarzen Tropfen. Aus diesen schossen jedoch, wie aus der geschmolzenen reinen Verbindung, beim Erkalten lange Prismen hervor.

§ 5. Aceton.



$CH_3 . CO . CH_3$.

A. *Vorkommen.* Aceton wurde zuerst von Petters und von Kaulich in diabetischem Harn aufgefunden; darauf hat es v. Jaksch[2]) auch aus normalem Harn von Menschen, Kaninchen und Katzen, ferner aus verschiedenen pathologischen Harnen rein dargestellt; später wurden

---

1) Schiffer, Ztschr. f. physiol. Ch. **4**. 237.

2) W. Petters, Prager Vjhrsschr. **55**. 81. 1857. — Kaulich, daselbst **67**. 58. 1860. — R. v. Jaksch, Ueber Acetonurie und Diaceturie, Berlin 1885. 43; Ztschr. f. physiol. Ch. **6**. 541. 1882; Ztschr. f. klin. Med. **5**. 346. 1882.

von Deichmüller, sowie von Brieger grössere Mengen Aceton aus diabetischem Harn abdestillirt. Es ist als solches im Harn enthalten unter normalen und vielen pathologischen Verhältnissen (v. Jaksch), kann aber auch, wo es in grossen Mengen auftritt, wie beim Diabetes, wenigstens zum Theil erst bei der Destillation des Harnes aus Acetessigsäure entstanden sein. Normaler Harn enthält nur sehr wenig, nach v. Jaksch die Tagesmenge höchstens 0,01 g; unter pathologischen Verhältnissen kann der Gehalt des Harns in der 24stündigen Menge bis zu 0,5 g und darüber steigen. Eine starke Acetonurie erscheint als Begleiterscheinung eines erhöhten Zerfalls von Gewebssubstanz oder eiweissartiger Nahrung und ungenügender Oxydation. Die Bildung von Aceton im Darm durch eine Gährung ist möglich, aber nicht sicher erwiesen.

v. Engel[1]) bestimmte nach dem verlässlichen Verfahren von Messinger die Acetonmenge im 24stündigen normalen Harn in Uebereinstimmung mit den Befunden Anderer zu 7—17 mg. Die Art der Nahrung ist insofern von Einfluss auf die Acetonausscheidung, als nach v. Jaksch, Rosenfeld, Ephraim sowie Gumlich beim Menschen, nach Baginsky[2]) beim Hunde reichliche Aufnahme von eiweisshaltiger Nahrung die Acetonausscheidung gegenüber gemischter oder aus Amylaceen bestehender Kost erheblich steigert. v. Engel fand bei Gesunden unter Fleischkost 15—845 mg Aceton in der Tagesmenge, Hirschfeld[3]) bis 0,9 g, wobei allerdings die grossen Acetonmengen aus gleichzeitig gegenwärtiger Acetessigsäure stammen. Kohlenhydrate setzen die Acetonausscheidung beträchtlich herab (Hirschfeld), auch Milchzucker; aber in einem Fall von Lactosurie enthielt nach v. Engel der 24stündige Harn während der Milchstauung 128 mg Aceton, nach derselben eine normale Menge. Zufuhr von (organischen) Säuren ist nach Ephraim und nach Meyer[4]) ohne Einfluss auf die Acetonausscheidung, während sie durch Zufuhr von Alkali (Natriumcarbonat) gesteigert wird. Auch (inactive) Oxybuttersäure in kleiner Menge ist beim diabetischen Menschen nach Meyer, Levulinsäure beim gesunden Thiere nach Weintraud ohne jeden oder doch ohne erheblichen Einfluss auf die Acetonausscheidung; wohl aber tritt nach Einverleibung grosser Mengen Oxybuttersäure nach Araki bei Thieren, die mit Kohlenoxyd vergiftet sind, sowie nach Minkowski[5]) bei Pankreasdiabetes Aceton und Acetessigsäure im Harn auf.

Im Hunger enthält der Harn nach v. Jaksch auch bei Abwesenheit von Acetessigsäure viel Aceton; nach Rosenfeld 16—26 mal soviel wie bei Nahrungszufuhr. Auf die Nahrungsabstinenz kann daher auch die vermehrte Acetonausscheidung bei Geisteskranken bezogen werden (Boeck und Slosse[6]).

Künstlich herbeigeführter Sauerstoffmangel erhöht die Acetonausscheidung nach Reale und Boeri; Gifte, welche die Blutkörperchen zerstören (Pyrodin nach Boeri, Antipyrin nach Tuczek), bewirken dasselbe. Bei der Cholera enthält nach Terray, Vas und Gara der Harn im Stadium algidum und dem der

---

[1]) v. Engel, Ztschr. f. klin. Med. **20**. 514. 1892.

[2]) v. Jaksch, Ueber Acetonurie etc. S. 43. — G. Rosenfeld, Deutsche med. Wochenschr. 40. 1885. — A. Ephraim, Zur physiol. Acetonurie. Diss. Breslau 1885; Jahresbericht f. Thierchemie 1885. 467. — Gumlich, Ztschr. f. physiol. Ch. **17**. 18. 1892. — Baginsky, Du Bois' Archiv 1887. 349; Archiv f. Kinderheilk. **9**. 1; Deutsche med. Wochenschr. 27. 1887.

[3]) F. Hirschfeld, Deutsche med. Wochenschr. 38. 1893. 914.

[4]) Meyer, Archiv f. exper. Pathol. **34**. 183. 1894.

[5]) W. Weintraud, daselbst **34**. 367. — Araki, Ztschr. f. physiol. Ch. **18**. 6. 1893. — Minkowski, Arch. f. exper. Pathol. **31**. 182. 1893.

[6]) G. Rosenfeld, Centralbl. f. innere Med. 51. 1895; Centralbl. f. d. med. Wiss. 1896. 113. — J. de Boeck und A. Slosse, Bull. de la Soc. de méd. mentale de Belg. 1891; Centralbl. f. d. med. Wiss. 1892. 580.

Reaction viel Aceton (und Acetessigsäure). In 1500 cc Harn, welche während eines heftigen asthmatischen Anfalls bei fieberloser Nephritis entleert wurden, bestimmte Pawinski[1]) 2,16 g Aceton (wohl zum Theil aus Acetessigsäure).

Die Narkose ruft nach Becker bei jedweder Art des Narcoticums eine mehrere Tage anhaltende starke Acetonurie hervor; im Liter solchen Harns bestimmte Parlato vaporimetrisch 0,09 — 0,95 cc. Nach Jufé[2]) ist bei der Chloroformnarkose die Acetonausscheidung der Dauer und Stärke der Narkose proportional.

Bei fieberfreien Krankheiten enthält der Harn meist nicht mehr Aceton, als der Gesunder, aber eine Steigerung findet statt in einzelnen Fällen von Magen- und Darmcarcinomen (v. Jaksch), chronischer Bleivergiftung (v. Engel, Lorenz), bei Diabetes in schweren Fällen (v. Jaksch) und wie beim Gesunden beim Uebergang zur animalischen Kost. In schweren Fällen von Diabetes sind in der Tagesmenge Harn 2—4,5 g Aceton bestimmt worden (v. Engel, Weintraud, Palma), beim Uebergang zur Fleischkost bis 5 g (Wolpe), wobei ein grosser Theil des Acetons aus der Acetessigsäure herrührte. Die Acetonausscheidung bei Diabetes steht in keiner Beziehung zur Zuckermenge des Harns (v. Jaksch u. A.), und, entgegen der Ansicht von Wright, nach Palma auch nicht zur Stickstoffmenge. Im diabetischen Coma nimmt das Aceton wieder ab (v. Engel). Hieher zu zählen sind noch Lyssa (v. Jaksch), Hysterie, (Palma, Lorenz), Morphinismus kurz vor dem Tode nach Aussetzen des Morphins (v. Engel), Phosphorvergiftung (Palma), das Wochenbett nach der Geburt einer todten oder macerirten Frucht (Vicarelli[3]).

Manche Digestionsstörungen sind nach v. Jaksch von starker Acetonurie (und Autointoxication) begleitet, und in verschiedenem Grade tritt sie nach Lorenz bei Digestionsstörungen jeder Art auf; häufig konnte von Lorenz dabei im Mageninhalt und in den Excrementen Aceton nachgewiesen werden. Möglicher Weise ist hier das Aceton im Darm entstanden; nach Kayser[4]) giebt es Milchsäurefermente, welche als Nebenprodukt Aceton erzeugen.

Bei fieberhaften Krankheiten kommt es nur dann zu einer erheblichen Acetonurie, wenn sich das Fieber andauernd hoch hält (v. Jaksch), und zwar unabhängig von der Art der Krankheit: v. Engel und Palma haben hier in der Tagesmenge 10—350 mg gefunden. Im Typhus ohne Diarrhöe enthielt der Harn nur fast normale Mengen Aceton (19—26 mg), mit Diarrhöe viel mehr (78—226 mg im Tage) (v. Engel).

Besonders geneigt zur Acetonurie sind Kinder (v. Jaksch, Schrack[5]). Acetonurie kann hier auftreten, auch wenn weder Fieber noch Digestionsstörungen bestehen (Jufé). Sehr viel Aceton enthält der Harn im eklamptischen Anfall (Baginsky) und bei den acuten Exanthemen (v. Jaksch).

---

[1]) Reale u. Boeri, Wiener med. Wochensch. 1895. 1064; Rivista clin. e terap. 1. Mai 1894; Jahresb. f. Thierch. 1894. 465. — P. Torray, R. Vas u. G. Gara, Berl. klin. Wochenschr. 12—15. 1893. — G. Boeri, Rivista clin. e terap. **13**. 1891 u. No. 6. 1893; Jahresb. f. Thierch. 1892. 519; 1894. 670. — Tuczek, Berl. klin. Wochenschr. 17. 1889. — J. Pawinski, Berl. klin. Wochenschr. 50. 1888.

[2]) E. Becker, Centralbl. f. Chirurgie 21. 1895; Virchow's Archiv **140**. 1. 1895. — E. Parlato, Virchow's Archiv **140**. 21. — Js. Jufé, Ueber das Vorkommen von Aceton etc. Diss. Würzburg 1886. Virchow-Hirsch's Jahresber. 1887. **1**. 254.

[3]) H. Lorenz, Zeitsch. f. klin. Med. **19**. 18. 1891. — W. Weintraud, Archiv f. exper. Pathol. **34**. 169. 1894. — P. Palma, Prager Zeitschr. f. Heilk. **15**. 463. 1894. — H. Wolpe, Archiv f. exper. Pathol. **21**. 145. 1886. — A. E. Wright, On some points with the pathology and treatment of Diabetes, London 1891; Jahresber. f. Thierch. 1891. 404. — G. Vicarelli, Prager med. Wochenschr. 33 u. 35. 1893.

[4]) E. Kayser, Ann. de l'Institut Pasteur **8**. 737; Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1895. 281.

[5]) K. Schrack, Jahrb. f. Kinderheilk. **29**. 411; Jahresber. f. Thierch. 1891. 395.

Von Bildungsweisen des Acetons ausserhalb des Organismus sind erwähnenswerth die bei der Spaltung der Acetessigsäure, sowie die bei der Oxydation von Oxybuttersäure, Glykuronsäure und Eiweiss.

B. *Eigenschaften.* Das Aceton stellt eine dünnflüssige, wasserhelle, bei 56,5^0 siedende, leicht entzündliche Flüssigkeit von angenehmem, an Essigäther erinnernden Geruche und neutraler Reaction dar. Dichte bei 0^0 0,8179, bei 19,8^0 0,7920. Mischt sich mit Wasser, Alkohol und Aether in jedem Verhältniss.

2) *Verbindungen:*

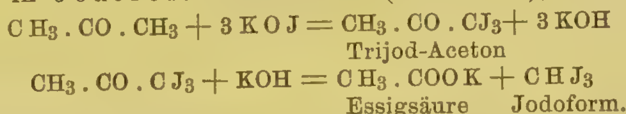
a. Giebt, wie nach v. Jaksch und nach Salkowski der Aldehyd, mit Quecksilberoxyd eine auch in Gegenwart von Alkalihydrat in Wasser lösliche Verbindung (Reynolds, Kutscheroff[1]).

b. Vereinigt sich mit Chlorcalcium zu einer durch Wasser zersetzbaren Verbindung. Mit Alkalidisulfit liefert es in Wasser ziemlich leicht, in Alkohol schwerer lösliche Plättchen $C_3H_6O . MHSO_3$.

c. Verbindet sich nach E. Fischer und Reisenegger[2]) mit Phenylhydrazin unter Wasseraustritt zu Acetonhydrazon $(CH_3)_2C:N.NH.C_6H_5$, bei 16^0 zu einem Oel schmelzende Nadeln (F. Schmidt[3]), das gegen Wasser und gegen Alkalien beständig ist, sich aber beim Erwärmen mit verdünnten Säuren leicht in seine Bestandtheile zersetzt. Die Verbindung ist dadurch ausgezeichnet, dass sie nicht, wie das Phenylhydrazin, Fehling'sche Lösung reducirt. (Klassenreaction für die Aldehyde und Ketone).

3. *Zersetzungen.*

a) Wird, wie alle Verbindungen von CH_3 mit einer leicht oxydirbaren Gruppe (CO, CH . OH, CH_2 . OH) durch alkalische Jodlösung (unterjodige Säure) in Jodoform verwandelt (Lieben[4]), nach



$$CH_3.CO.CH_3 + 3KOJ = \underset{\text{Trijod-Aceton}}{CH_3.CO.CJ_3} + 3KOH$$

$$CH_3.CO.CJ_3 + KOH = \underset{\text{Essigsäure}}{CH_3.COOK} + \underset{\text{Jodoform.}}{CHJ_3}$$

b) Liefert mit Ortho-Nitrobenzaldehyd in alkalischer Lösung Indigblau (Baeyer und Drewsen[5]), nach



$$2C_6H_4.NO_2.CHO + 2CH_3.CO.CH_3 = C_{16}H_{10}N_2O_2 + 2CH_3.COOH + 2H_2O.$$

c. Doppelt chromsaures Kali und verdünnte Schwefelsäure oxydiren das Aceton zu Essigsäure und Ameisensäure (oder Kohlensäure). Eine alkalische Permanganatlösung wird durch Aceton sehr schnell reducirt (Baeyer), ammoniakalische Silberlösung sowie nach Salkowski[6]) Quecksilberoxydsalz dagegen nicht.

d) Mit Kalihydrat, sowie mit concentrirter Schwefelsäure bräunt sich das Aceton.

4. *Farbenreactionen.*

a) Aceton färbt eine frisch bereitete alkalische Nitroprussidnatriumlösung rubinroth. Die Färbung verblasst bald zu gelb.

---

1) Salkowski, Pflüger's Archiv **56**. 346. 1894. — J. E. Reynolds, Proc. roy. Soc. **19**. 431. 1871; Zeitschr. f. Ch. [2] **7**. 254. — M. Kutscheroff, Berichte d. chem. Gesellsch. **17**. 20. 1884.

2) H. Reisenegger, Berichte d. chem. Gesellsch. **16**. 662. 1883.

3) F. Schmidt, Ann. d. Ch. **252**. 305.

4) A. Lieben, Ann. d. Ch. und Pharm. Suppl. **7**. 236. 1870.

5) Baeyer u. Drewsen, Ber. d. chem. Gesellsch. **15**. 2860.

6) Baeyer, Ann. d. Ch. **245**. 149. — Salkowski a. a. O. 347.

Uebersättigt man jetzt mit Essigsäure, so tritt eine carminrothe, bei Gegenwart von viel Aceton eine purpurrothe Färbung ein, welche nach längerer Zeit (48 St.) durch violett in blau übergeht (Legal)[1]. Auch Aldehyd giebt diese Reaction (Salkowski, Egeling).

Die Reaction wird auch erhalten vom Acetaldehyd (Salkowski, Egeling) von der Acetessigsäure (Hemala, Egeling); vom Indol (Hemala), nach Denigès[2]) von den kohlenstoffreicheren Aldehyden und Ketonen etc. Die Reactionen unterscheiden sich nach Hemala dadurch, dass die mit Indol erhaltene rothe Lösung ein breites Absorptionsband darbietet, die mit Aceton und Acetessigsäure erhaltene dagegen nicht. — Allgemeines über diese Reaction bei Denigès (vgl. auch S. 50).

b) Eine mit Kaliumhydrat alkalisch gemachte Meta-Dinitrobenzollösung wird nach Béla v. Bittó[3]) durch Aceton violettroth und darnach auf Zusatz einer organischen Säure oder von Metaphosphorsäure kirschroth, während die violettrothe Färbung, welche das Reagens mit Aldehyd annimmt, durch die Säuren in gelbroth umschlägt. Kreatinin verändert die Farbe der Lösung nicht.

c) Eine (strohgelbe) alkalische Pikrinsäurelösung wird nach Béla durch Aldehyde und Ketone orangegelb und die Lösung durch Säuren noch tiefer gefärbt.

d) Para-Diazobenzolsulfosäure wird in alkalischer Lösung durch Aceton, wie die Aldehyde, roth gefärbt aber ohne Stich ins Blaue (Penzoldt, Petri).

e) Aceton giebt mit einer 1—2 proc. wässrigen Lösung von Para-Dimethylphenylendiamin (Para-Amidodimethylanilin) allmählich eine röthliche Färbung, die innerhalb einiger Tage schön blutroth wird. Die Flüssigkeit zeigt dann zwei Absorptionsstreifen zwischen D und E. Alkali entfärbt, Säure macht darauf violett. Gelingt nur mit 1—2 proc. Acetonlösung (Malerba[4]).

f) Aldehyde färben eine mit schwefliger Säure entfärbte Fuchsinlösung roth; völlig reines Aceton gibt dagegen nach Villiers und Fayolle[5]) diese Reaction nicht.

C. *Nachweis.* Zum Nachweis von Aceton dienen die folgenden Proben; v. Jaksch[6]) hat die Proben 1—4 und 6 auf ihre Empfindlichkeit verglichen.

1. Die Jodoformprobe von Lieben (B. 3. a.). Das entstehende Jodoform bildet schwefelgelbe sechsseitige Täfelchen, ist mit Wasserdämpfen flüchtig und setzt sich an den kalten Theilen des Reagensglases wieder krystallinisch ab. Der Dampf besitzt einen eigenthüm-

---

1) E. Legal, Breslauer ärztliche Zeitschr. 3 u. 4. 1883.

2) Salkowski, a. a. O. 346. — E. Guldensteeden Egeling, Nederl. Tijdschr. voor Pharmazie 6. 217; Chem. Centralbl. 1894. 2. 447. — R. Hemala, Krukenberg's Unters. zur wissensch. Med. Jena 1888. 117. Jahresb. f. Thierch. 1889. 89. — G. Denigès, Bull. de la Soc. chim. [3] 15. 1058. 1896.

3) Béla v. Bittó, Ann. d. Ch. 269. 377. 1892.

4) P. Malerba, Atti della R. Acad. med. e chirurg. Anno 48; Jahresb. f. Thierch. 1894. 76.

5) A. Villiers u. M. Fayolle, Comptes rendus 119. 75; Bull. de la Soc. chim. [3] 11. 691. 1894.

6) v. Jaksch, Zeitschr. f. klin. Med. 8. 115. 1884; Ueber Acetonurie etc. S. 17.

lichen safranartigen Geruch und ist auch noch bei Spuren Jodoform wahrnehmbar. Diese Probe ist die empfindlichste. Man erhält den Niederschlag mit nur 0,01 mg Aceton noch in 1—3 Minuten, mit 0.0001 mg in 24 Stunden. Lösungen, welche mehr als 0,01 mg Aceton enthalten, geben den Niederschlag sogleich. Bei der Verwendung von fixem Alkali geben u. A. auch Alkohol und Aldehyd Jodoform.

Manchmal scheidet sich das Jodoform statt in Tafeln in Sternen oder amorph ab; beim freiwilligen Verdunsten einer Lösung desselben in alkoholfreiem Aether auf dem Objektträger können sechsseitige Plättchen erhalten werden. Der amorphe Niederschlag kann auch nach Vitali[1]) so auf Jodoform untersucht werden, dass man ihn mit einem Körnchen Kalihydrat und einer grösseren Menge festem Thymol erhitzt. Beim Schmelzen des Thymols nimmt die Masse eine schön violette Färbung an und ihre gleichfalls violette alkoholische Lösung wird auf Zusatz concentrirter Schwefelsäure scharlachroth. Diese Probe gelingt noch mit sehr wenig Jodoform.

Von den vielen Substanzen, welche mit Jodjodkalium und Alkalihydrat gleichfalls Jodoform liefern, kann namentlich der Alkohol zu Verwechselungen Anlass geben. Die Alkoholprobe ist aber viel weniger empfindlich als die auf Aceton, insofern als 7,5 mg Alkohol in der Kälte erst in 6—8 Stunden einen Niederschlag geben. Ueber den Nachweis von Alkohol vrgl. diesen. Durch Destillation unter Zusatz von saurem schwefligsauren Salz lässt sich das Aceton nicht vom Alkohol trennen. Dagegen gelangt man nach Albertoni[2]) (Schmiedeberg) zum Ziele, wenn man die Flüssigkeit nach Zusatz von saurem schwefligsauren Natron mit Weingeist fällt, den Niederschlag auf dem Filter mit reinem Aether wäscht, einige Tage über Schwefelsäure trocknet, nochmals mit Aether wäscht und trocknet und endlich mit kohlensaurem Natron destillirt. Das Destillat enthält das Aceton.

Vom Aldehyd unterscheidet sich das Aceton, ausser nach C. 2, dadurch, dass der Aldehyd ammoniakalische Silberlösung in der Kälte reducirt, das Aceton nicht. Die Reduction ist aber bei Abwesenheit von fixem Alkali auch beim Aldehyd sehr träge und bei Gegenwart von fixem Alkali wird die Lösung auch durch Aceton geschwärzt. — Quecksilberoxydsalz wird durch Aldehyd reducirt, durch Aceton nicht.

Aldehyd färbt fuchsinschweflige Säure roth, Aceton nicht. Man erhält das Reagens durch Versetzen einer schwachen, (1 proc.) Fuchsinlösung mit schwefliger Säure bis zur Gelbfärbung. Nach Villiers und Fayolle[3]) ist es nur dann empfindlich, wenn bei der Darstellung ein Ueberschuss von schwefliger Säure vermieden wird. Die Entfärbung erfolgt nur langsam (in einem Tag). Die Versuche müssen in verschlossenen Gefässen ausgeführt werden, weil sich das Reagens bei längerer Einwirkung von Luft allein roth färbt.

Aldelhyd, sowie Aceton färben alkalische Meta-Dinitrobenzollösung violettroth, die Acetonlösung wird aber auf Zusatz einer organischen Säure von Metaphosphorsäure kirschroth, die Aldehydlösung gelbroth (B. 4. b.)

Zur Trennung des Acetons von Aldehyd empfiehlt Contejean[4]) die Flüssigkeit (den Harn) mit Anilin zu schütteln, wobei sich nach Schiff nur der Aldehyd mit dem Anilin verbindet. Bei der Destillation des angesäuerten Filtrats gehe dann Aceton über.

Phenol liefert bei derselben Reaction Trijodphenol, welches aber in der Lauge gelöst bleibt und erst bei der Uebersättigung der Lauge mit Säure ausfällt (Huppert).

---

[1]) Vitali, Rivista di Chim. med. et farm, **1**. 350. 1883; Jahresber. f. Thierchemie 1883. 72.

[2]) Albertoni, Archiv f. exper. Pathologie **18**. 227. 1884.

[3]) Villiers und Fayolle. a. a. O.

[4]) Ch. Contejean, Arch. de physiol. **24**. 715. 1892.

2. Einer Verwechslung des Acetons mit Alkohol oder Aldehyd wird von vornherein vorgebeugt durch die Jodoformprobe nach Gunning[1]). Man stellt sie an mit einer alkoholischen Jodlösung und Ammoniak, oder, nach le Nobel's Vorschlag mit einer Auflösung von Jod in Jodammonium. Es tritt neben Jodoform ein schwarzer Niederschlag von Jodstickstoff auf, der beim Stehen der Probe allmählich verschwindet, wobei das Jodoform sichtbar wird.

Die Reaction hat vor der Lieben'schen Jodoformprobe den Vorzug, dass sie mit Alkohel und nach v. Jaksch auch mit Aldehyd kein Jodoform liefert, ist aber nicht ganz so empfindlich und bequem wie jene. Zwar erhält man noch mit 0,01 mg Aceton Jodoform, muss dann aber 24 Stunden auf das Verschwinden des Jodstickstoffs warten.

3. Die Probe von Reynolds beruht auf dem Vermögen des Acetons frisch gefälltes Quecksilberoxyd zu lösen. (B. 2. a.) Man verfährt nach Gunning[1]) dabei so, dass man Sublimat mit alkoholischer Kalilösung fällt, die Flüssigkeit, welche auf Aceton untersucht werden soll, zusetzt, tüchtig schüttelt und das Filtrat mit Schwefelammon überschichtet. Bei Gegenwart von Aceton entsteht an der Berührungsstelle ein schwarzer Saum von Quecksilbersulfid. Man kann das Filtrat auch nach starkem Ansäuern mit Zinnchlorür auf Quecksilber prüfen. Die Probe ist so empfindlich, wie die von Gunning. Nach v. Jaksch löst aber auch Aldehyd grosse Mengen Quecksilberoxyd ohne Reduction, was Salkowski bestätigt.

Vor dem Zusatz des Schwefelammons muss nach Salkowski[2]) selbstverständlich alles suspendirte Quecksilberoxyd abfiltrirt werden; das mit alkoholischer Kalilösung bereitete Quecksilberoxyd geht nicht so leicht durch das Filter, als das mit wässeriger Lauge dargestellte. Auch das rothe Quecksilberoyxd wird vom Aceton gelöst (Kutscheroff), wenn auch nicht so leicht wie das amorphe gelbe. Enthält das Quecksilberoxyd noch Alkalihydrat, so bildet sich auf Zusatz von Schwefelammon Schwefelalkali; das Lösungsvermögen des Alkalisulfhydrats für das Quecksilbersulfid ist aber in Gegenwart von Alkalihydrat so bedeutend, dass von den geringen Mengen Schwefelquecksilber ein ansehnlicher Theil der Wahrnehmung entgehen kann. Man verwende deshalb gut ausgewaschenes Quecksilberoxyd oder säuere die Probe nach dem Abfiltriren des überschüssigen Oxyds vor dem Zusatz des Schwefelammons schwach an. Schwefelammon löst nur Spuren Quecksilbersulfid.

4. Die Probe von Legal (mit Nitroprussidnatrium in alkalischer Lösung, B. 4. a.) gelingt nach v. Jaksch nur noch mit 0,8 mg Aceton. Durch Alkohol kommt sie nicht zu Stande. Nach le Nobel[3]) gelingt die Reaction auch bei Anwendung von Ammoniak oder kohlensaurem Ammon, doch tritt hier die Färbung nur sehr langsam ein, die le Nobel'sche Modification schliesst jedoch nach Egeling eine Verwechslung mit Aldehyd aus.

---

1) Gunning, bei Bardy, Journ. de pharm. et de chim. [5] 4. 30. 1881.
2) Salkowski, a. a. O. 344.
3) Le Nobel, Archiv f. exper. Pathol. 18. 9. 1884. — Egeling a. a. O.

Parakresol wird nach v. Jaksch mit Nitroprussidnatrium und Natronlauge rothgelb, beim Ansäuern mit Essigsäure hellrosa, kann also mit Aceton verwechselt werden. Kreatinin macht mit Nitroprussidnatrium und Natron denselben Farbenwechsel durch wie Aceton, auf Zusatz von Essigsäure bleibt die Flüssigkeit aber zunächst gelb und wird dann allmählich, schneller in der Wärme, grün und zuletzt blau.

5. Die von Béla angegebene Reaction mit alkalischer Dinitrobenzollösung (B. 4. b.)

6. Die Indigoprobe von Penzoldt[1]) beruht auf der Umwandlung des Nitrobenzaldehyds in Indigblau (B. 3. b).

Es werden einige Krystalle des Nitrobenzaldehyds in heissem Wasser gelöst, nach dem Erkalten mit der Flüssigkeit, die untersucht werden soll, und mit Natronlauge versetzt. Bei Gegenwart von Aceton färbt sich die Flüssigkeit erst gelb, dann grün und endlich scheidet sich der Indigo (krystallinisch) ab. Man weist ihn unter dem Mikroskop nach oder schüttelt die Probe mit Chloroform, das sich blau färbt. Es müssen wenigstens 1,6 mg Aceton vorhanden sein, wenn die Probe gelingen soll. Alkohol giebt sie nicht, aber Aldehyd.

Bei der Untersuchung des Harns kann man auf einen reichen Gehalt desselben an Aceton durch den süsslichen obstähnlichen Geruch aufmerksam werden. Direkt im Harn lässt sich das Aceton mit den Proben von Legal, Penzoldt und Béla aufsuchen. Doch ist dabei zu berücksichtigen, dass nur acetonreicher Harn diese Proben giebt; nach v. Engel[2]) tritt die Probe von Legal erst ein, wenn der Harn wenigstens 4 mg Aceton in 100 cc enthält und die Probe von Penzoldt ist nur halb so empfindlich, wie diese. Auch giebt die Acetessigsäure die Legal'sche Probe. Wenn das von Béla vorgeschlagene Dinitrobenzol empfindlich genug ist, so liesse sich dieses sehr wohl zur Erkennung von Aceton neben Kreatinin im Harn verwenden.

Sicher lässt sich das Aceton im Harndestillat nachweisen. Man destillirt unter guter Kühlung wenigstens 250 cc Harn, den man mit etwas Säure versetzt hat. Die Hauptmenge des Acetons ist in den ersten 10—20 cc Destillat enthalten. Man prüft dann zunächst mit den empfindlichsten Proben 1—3; die Proben 5 und 6 gelingen nur, wenn einigermassen grössere Mengen vorhanden sind. Die Jodoformprobe in der Modification von Gunning schützt vor einer Verwechslung mit Alkohol und mit Aldehyd, die Legal'sche Probe wird mit Alkohol nicht erhalten und in der von le Nobel vorgeschlagenen Form auch nicht mit Aldehyd. Beide zusammen schliessen das Parakresol aus, welches im Destillat enthalten sein kann und mit Nitroprussidnatrium auch eine Färbung giebt. — Der Harn muss frisch untersucht werden. Die Acetessigsäure liefert bei der Destillation Aceton; man findet bei

---

[1]) Penzoldt, Archiv f. klin. Med. **34**. 132. 1883.
[2]) v. Engel, Zeitschr. f. klin. Med. **20**. 530.

Gegenwart dieser im Harn Aceton im Destillat, auch wenn der Harn kein präformirtes Aceton enthält.

Man darf nach Salkowski und Tanigutti bei der Destillation nicht viel Schwefelsäure zusetzen und nicht zu weit abdestilliren, weil sonst im Destillat auch Aldehyd auftritt. Der Zusatz von Säure ist für die Gewinnung des Acetons überflüssig; er soll nur den Uebergang des Ammoniaks in das Destillat und zu starkes Schäumen des Harns verhüten. Einige Cubikcentimeter Schwefelsäure oder Salzsäure auf das Liter Harn genügen. Die Salzsäure ist auch darum der Schwefelsäure vorzuziehen, weil nach Albertoni ein Ueberschuss von Schwefelsäure Aceton zerstört.

§ 6. Kohlenhydrate.

A. Allgemeines.

A. *Vorkommen.* Der normale Harn enthält unter ganz physiologischen Verhältnissen immer kleine Mengen von Kohlenhydraten, von denen man drei sicher erkannt hat: Thierisches Gummi, Traubenzucker und Isomaltose. An diese schliessen sich von verwandten Stoffen an die gepaarten Glykuronsäuren, und von Glykosiden die Chondroitinschwefelsäure, die Nucleinsäure und (in der Nubecula) das Harnmucoid. Unter Umständen kann auch Pentose im Harn auftreten. Unter pathologischen Verhältnissen kann der Harn (bei Zuckerharnruhr, bei Glykosurie) Traubenzucker, bei Diabetes auch linksdrehenden Zucker enthalten; es ist in diabetischem Harn ferner einige Male ein der Stärkegruppe angehöriges Kohlenhydrat, Erythrodextrin oder Glykogen, angetroffen worden.

Bei Ueberfüllung des Darms mit Traubenzucker, Milchzucker und Rohrzucker können nach Worm-Müller[1]) kleine direct erkennbare Mengen von diesen in den Harn übergehen. Weiter hat Hofmeister nachgewiesen, dass vom Darm aus Galaktose und Milchzucker am Leichtesten in den Harn übertreten, weit schwieriger Dextrose, Levulose und Rohrzucker. Nach Cremer gehen mit zunehmender Leichtigkeit in den Harn über: Traubenzucker, Mannose, Sorbose, Pentosen, (Arabinose, Xylose, Rhamose). Die Grösse, bis zu welcher die Zuckerzufuhr gesteigert werden muss, damit Uebertritt in den Harn erfolgt, bezeichnet Hofmeister als Assimilationsgrenze. Von Gesunden werden 200 g Traubenzucker (auf einmal) vertragen, wenn aber nach einer Dosis von 100 g Glucose Zucker im Harn auftritt, so gilt der Fall als pathologisch (v. Jaksch[1]). Milchzucker kann bei Stauung der Milch in der Brustdrüse im Harn erscheinen. — Bei der ammoniakalischen Harngährung verschwindet nach Salkowski[2]) wenigstens ein Theil der normalen Kohlenhydrate aus dem Harn; nach Treupel[2]) nehmen sie anfangs schnell ab, später sehr langsam und verschwinden nie ganz.

Ueber die Mengen, in welchen die gesammten Kohlenhydrate des normalen Harns auftreten, geben folgende Befunde Auskunft.

---

1) Worm-Müller, Pflüger's Achiv **34**. 576. 1884. — F. Hofmeister, Archiv f. exper. Pathol. **25**. 240. 1889. — M. Cremer, Ztschr. f. Biol. **29**. 484. 1893. — v. Jaksch, Prager med. Wochenschr. 1892. 367.

2) Salkowski, Ztschr. f. physiol. Ch. **13**. 270. 1889 u. **17**. 273. 1892. — G. Treupel, Ztschr. f. physiol. Ch. **16**. 56. 1891.

Mittelst der Furfurolprobe (α-Naphthol) bestimmte v. Udránszky den Gehalt des normalen Harns zu 0,075— 0,35 %, Luther[1]) zu 0,23 % im Mittel (0,08—0,60 %) als Traubenzucker ausgedrückt, die Tagesmenge zu 2,00—2,82 g. Der am Morgen entleerte Harn enthält nach Luther im Mittel aus vielen Bestimmungen am Wenigsten (0,155 %), der Nachmittags von 2—3 Uhr entleerte am Meisten (0,245 %); am späten Nachmittag enthält der Harn 0,198 %, womit die Erfahrungen von v. Udránszky übereinstimmen. Nach reichlicher Mahlzeit, namentlich nach dem Genuss von viel Amylaceen oder Obst kann der Gehalt des Harns an Kohlenhydrat bis auf 0,45 % steigen (v. Udránszky). Von den 0,23 % der mittleren Kohlenhydratmenge vergähren nach Luther 0,094 im Mittel, manchmal vergährt auch Nichts oder so gut als Nichts. (Der vergährbare Antheil ist nach Baisch und nach Lemaire Traubenzucker, der unvergährbare Isomaltose und thierisches Gummi; vergl. Benzoësäureester, S. 64). An demselben Tage und bei derselben Person macht der unvergährbare Antheil weniger Schwankungen, als die gesammte Kohlenhydratmenge, oft auch gar keine; Nachmittags scheint seine Menge grösser zu sein. Nach Verabreichung von Traubenzucker, Rohrzucker oder Milchzucker nicht unter 50 g stieg die Ausscheidung beiderlei Antheile nur um Geringes; nach dem Genuss von 1 Liter Milch, 1 Liter Bier oder 100 g Traubenzucker nahm die vergährbare Substanz zu. Der Harn alter Leute enthält mehr unvergährbare Substanz als der junger. Nach v. Udránszky verhält sich der Harn fieberfreier Kranker wie der Gesunder. In diabetischem Harn ist nach Luther[1]) nach dem Ausfall der Furfurolprobe im Vergleich mit anderen Bestimmungsweisen nicht mehr unvergährbare furfurolgebende Substanz (0,1—0,3 %) enthalten, als in normalem Harn.

Im Harn von Hunden entsprach die Kohlenhydratmenge nach Roos[1]) im Mittel einer Traubenzuckermenge von 0,87 % (0,32—1,46); concentrirter Harn war im Allgemeinen reicher, als verdünnter. Beim Kaninchen fand sich 0,306 % (0,16—0,50), beim Pferd 0,38 % (0,08—0,64). Nach Weiske[2]) enthält der Harn vom Schaf und vom Kaninchen bei Fütterung mit Heu und Hafer nur wenig furfurolbildende Substanz.

An Benzoësäureestern wurde von Salkowski aus 1 Liter Harn abgeschieden im Mittel 2,04 (1,01—3,66), von Baisch 2,165 g (0,742—3,370) von Lemaire 2,54 g. Nach einem weniger ausgebildeten Verfahren hat Wedenski diese Menge zu 1,38—13,09 bestimmt. Bei Morbus maculosus Werlhofii, auf der Höhe der Krankheit gewannen Stadthagen und Brieger[3]) aus dem Liter 24—45 g.

Aus dem Harn von Hunden gewann Roos im Mittel 0,743 % (0,461—1,216) Benzoësäureester, aus dem vom Kaninchen 0,135 (Spur bis 0,185) und aus dem von Pferden 0,245 (Spur bis 0,522).

Nach Roos besteht kein bestimmtes Verhältniss zwischen der Menge des Benzoësäureesters und dem der furfurolbildenden Substanz, nach Treupel[4]) gehen aber beide Werthe einander parallel.

Ueber die Grösse des Reductionsvermögens des normalen Harns finden sich Belege unter C. S. 72.

---

[1]) v. Udránszky, Berichte der naturforschenden Gesellsch. zu Freiburg i. B. 4. 197; Festschr. zum 25j. Jubiläum des Prof, v. Korányi, Budapest, 1891; Jahresber. f. Thierch. 1891. 197. — E. Luther, Ueber das Vorkommen von Kohlenhydraten im normalen Harn, Freiburger Dissert. Berlin, 1890. 42. — Luther a. a. O. 14.

[2]) K. Roos, Ztschr. f. physiol. Ch. **15**. 531. 1891.

[3]) Weiske, Zeitschr. f. physiol. Ch. **20**. 497. 1895.

[4]) Salkowski, Ztschr. f. physiol. Ch. **17**. 243. 1892. — K. Baisch, daselbst **18**. 204. 1893. — F. A. Lemaire, daselbst **21**. 444. 1895. — N. Wedenski, daselbst **13**. 122. 1888. — M. Stadthagen und L. Brieger, Berliner klin. Wochenschr. 1889. 346.

[5]) G. Treupel, Ztschr. f. physiol. Ch. **16**. 59. 1893.

Allgemeine Kohlenhydrat-Reactionen, welche zum Nachweis von Kohlenhydraten im physiologischen Harn dienen können, sind die Reaction mit Benzoylchlorid und Natronlauge und die Furfurolreactionen.

v. Udránszky bezieht zwar die Bildung brauner huminartiger Substanzen beim Behandeln des Harns mit Säuren auf eine Zersetzung der Kohlenhydrate, zum Nachweis derselben ist diese Reaction jedoch nicht geeignet.

A. Die Benzoësäureester der Kohlenhydrate.

Schüttelt man Harn mit Benzoylchlorid und einer zur Zersetzung dieses hinreichenden Menge Natronlauge, so erhält man nach Baumann[1]) einen Niederschlag von Benzoylverbindungen verschiedener Substanzen, unter denen bei weiterer Untersuchung Traubenzucker, Isomaltose und thierisches Gummi nachgewiesen sind.

1. Verfahren. Der Harn wird durch Natronlauge von den Erdalkaliphosphaten befreit, nach dem Filtriren auf 100 cc mit 4 cc Benzoylchlorid und 40 cc 10 proc. Natronlauge versetzt und so lang geschüttelt, bis der Geruch nach Benzoylchlorid nicht mehr wahrnehmbar ist.

Es ist zweckmässig, den Harn zur vollkommeneren Abscheidung der Phosphate nach dem Zusatz der Natronlauge über Nacht stehen zu lassen. Nach v. Fodor ist die Ausbeute bei Verwendung von mehr Benzoylchlorid oft bedeutend grösser, und er empfiehlt daher einen Zusatz von 10 cc Chlorid auf 100 cc Harn; Baisch hat aber ermittelt, dass mit 4 cc Chlorid alles oder so gut wie alles Kohlenhydrat gefällt wird. Ein geringeres Volumen als das 10 fache des Chlorids von der Lauge zu verwenden, ist nach Baisch nicht vortheilhaft, weil mit weniger, z. B. nur der 8 fachen Menge, der Niederschlag nicht fest, sondern klebrig ist, sich nicht vollständig auf das Filter bringen und nicht auswaschen lässt; doch haben Wedenski sowie v. Fodor[2]) auch mit der bloss 8 fachen Menge Lauge in dieser Hinsicht gute Resultate bekommen. Auch ein nicht hinreichend langes Schütteln mit dem Benzoylchlorid kann nach Lemaire Ursache sein, dass sich der Niederschlag nur schlecht abfiltriren lässt.

Die Abscheidung der Ester erfolgt nach v. Fodor vollständiger, wenn man den Harn vor der Behandlung mit dem Benzoylchlorid auf das 3—4 fache verdünnt. Fauler Harn oder Hundeharn scheidet Benzamid ab, welches an seiner krystallinischen Beschaffenheit kenntlich ist. Die Verwendung von viel Lauge beeinträchtigt nach Lehmann[3]) die Bildung des Benzamids und Verdünnen des Harns mit 1—2 Volumen Wasser beseitigt sie nach Roos. Uebrigens lässt sich das Benzamid aus dem Niederschlag mit Aether entfernen.

Eine grössere Ausbeute und eine bessere Uebereinstimmung der Resultate bei vergleichenden Bestimmungen erzielt man, wenn man nach v. Fodor nach dem Verschwinden des Geruchs nach Benzoylchlorid die Lauge, um ihre verseifende Wirkung auf den Ester zu beseitigen, nahezu neutralisirt. — Das vorherige Ausfällen des Harns mit Bleizucker liefert kein reineres Präparat als die

1) Baumann, Berichte der chem. Gesellsch. 19. 3220. 1886.

2) G. v. Fodor, Festschrift zum 25 jähr. Jubiläum des Prof v. Korányi, Budapest 1891; Jahresb. f. Thierch. 1891. 292. — Baisch, a. a. O. 198. — Roos, a. a. O. 531.

3) V. Lehmann, Ztschr. f. physiol. Ch. 17. 405. 1892.

directe Verarbeitung des Harns, vermindert aber die Ausbeute. Wird der Harn mit Bleiessig ausgefällt, so enthält das Präparat sehr viel (bis 19 %) Asche (Baisch[1]).

V. Meyer[2]) hat darauf aufmerksam gemacht, dass käufliches Benzoylchlorid oft Chlorbenzoylchlorid und Benzaldehyd enthält, welche sich bei Benzoylirungen an dem Process betheiligen können. Dieser Umstand ist von Bedeutung, wenn die Ester selbst, und nicht die aus ihnen wieder gewonnenen Kohlenhydrate, untersucht werden sollen.

Eigenschaften. Die Benzoësäureester stellen ein schwach gelbliches krümliches Pulver oder wenn zu ihrer Darstellung eine ungenügende Menge Lauge verwendet wurde oder das Benzoylchlorid nicht lang genug einwirkte, eine schmierige Masse dar. Der Schmelzpunkt der festen Substanz schwankt zwischen 60° (Wedenski) und 125° (Baisch); der Unterschied ist offenbar bedingt durch den verschiedenen Grad ihrer Reinheit, den Gehalt an Kohlenhydrat und die Art des Kohlenhydrats; vor dem Schmelzen sintern sie und das Schmelzen erfolgt unter Bräunung und Gasentwickelung. Sie lösen sich in warmem Alkohol und scheiden sich beim Erkalten wieder aus; auch in Eisessig lösen sie sich (Salkowski). Sie enthalten fast stets Stickstoff, aber da sie die Millon'sche Reaction nicht geben, kein Eiweiss (Baisch); nur das Benzoat aus Kaninchenharn fand Roos stickstofffrei, das aus Pferdeharn enthielt kaum wahrnehmbare Mengen Stickstoff und das aus Hundeharn etwas deutlichere Spuren. Bei der Analyse einer aschefreien Verbindung fand Baisch[3]) 67,72 % C, 5,57 % H, und 2,3 % N.

Durch Lösen in Alkohol lassen sich die Ester reinigen; Aether entzieht ihnen etwa beigemengtes Benzamid. Durch Zerreiben in 2 procentiger Salzsäure und Wegwaschen derselben erhielt Baisch sein aschefreies Präparat. Lemaire sah aber das Benzoat bei gleicher Behandlung schmierig werden.

Wie von Udránszky zuerst fand, geben die Niederschläge eine schöne Furfurolreaction. Concentrirte Salpetersäure und concentrirte Schwefelsäure zersetzen die Ester nach Kueny[4]) nur unvollständig, durch Natronlauge werden sie nach Wedenski in der Wärme verseift, dabei aber der Traubenzucker zerstört. Eine Verseifung von Traubenzucker-Benzoat unter Erhaltung des Zuckers mit allen seinen Eigenschaften wird nach Kueny aber erreicht durch alkoholische Natriumäthylatlösung schon in der Kälte.

Die Verseifung wird nach Baisch[5]) in der Weise vorgenommen, dass in einer (auf —5°) abgekühlten Lösung von Natrium in absolutem Alkohol das zerriebene

[1]) Baisch, a. a. O. 200.
[2]) V. Meyer, Berichte der chem. Gesellsch. **24**. 4251. 1891; E. Hoffmann und V. Meyer, daselbst **25**. 209.
[3]) Baisch, a. a. O. **18**. 199.
[4]) v. Udránsky, Ztschr. f. physiol. Ch. **12**. 379. 1888. — L. Kueny, daselbst **14**. 330. 1889.
[5]) Baisch, a. a. O. **19**. 342.

Benzoat (10 g auf 7,5 g Natrium in 300 cc Alkohol) eingetragen wird. Von dem Benzoat bleibt ein um so geringerer Rest unzerlegt, je feiner der Ester gepulvert war. Das Ende der Verseifung ist daran kenntlich, dass sich eine Probe mit 3—4 Vol. Wasser nicht mehr trübt, eine grössere Menge Wasser giebt einen Niederschlag von Benzoësäureäthylester. Alsdann wird soviel Schwefelsäure mit einem dem Alkohol gleichen Volumen Wasser zugesetzt, als das Natrium zur Bildung von saurem Sulfat erfordert und die Flüssigkeit dreimal mit etwa der gleichen Menge Aether ausgeschüttelt. Eine entstehende Emulsion beseitigt man durch vorsichtigen Zusatz geringer Mengen Alkohol. Geringe Mengen Zucker, welche in den (alkohol- und wasserhaltigen) Aether übergehen, werden den einzelnen Auszügen durch zweimaliges Waschen (mit je 100 cc) Wasser wieder entzogen. Die wässrig-alkoholische Flüssigkeit wird nahezu neutralisirt, zur Abscheidung des normalen Sulfats mit 2—3 Vol. Alkohol über Nacht stehen gelassen, und bei gerade wahrnehmbarer saurer, niemals aber alkalischer Reaction im Wasserbad vom Alkohol befreit. Giebt eine Probe der Lösung mit Alkohol noch einen Niederschlag, so fällt man sie nochmals mit 4—5 Vol. Alkohol und verdunstet das Filtrat abermals. Die braune Flüssigkeit lässt sich durch Bleizucker und Bleiessig entfärben; das überschüssige Blei wird durch Schwefelwasserstoff, dieser durch Kohlensäure entfernt.

Der Traubenzucker wurde daran erkannt, dass der erste schwerlösliche Antheil des mit Phenylhydrazin erhaltenen Niederschlags den Schmelzpunkt (204—205 °) und den Stickstoffgehalt des Glucosazons besass (gefunden 15,58 % N., berechnet 15.64). Weitere Eigenschaften des Traubenzuckers ergaben sich aus dem Verhalten der Lösung; sie drehte rechts, gohr mit Hefe und reducirte alkalische Kupferhydratlösung. Die Flüssigkeit reducirte (wegen ihres Gehalts an Isomaltose) doppelt so stark Fehling'sche Lösung, als ihrem durch Polarisation ermittelten Gehalt an Traubenzucker entsprach (Baisch). Glykuronsäure ist ausgeschlossen, weil diese nach Thierfelder unter diesen Umständen kein unlösliches Benzoat giebt.

Die Isomaltose fand sich in der vergohrenen mit Bleiacetat ausgefällten Flüssigkeit; diese drehte rechts und reducirte Kupferoxyd in alkalischer Lösung (Baisch), sowie Nylander'sche Lösung (Lemaire). Wurde die Flüssigkeit mit Phenylhydrazin behandelt, so schied sich in der Wärme Glucosazon ab, beim Erkalten aber ein zweites Osazon, welches ganz das Aussehen und den Schmelzpunkt (152—154° Baisch, 150—151° Lemaire[1]) besass, wie das Osazon der Isomaltose von E. Fischer.

Das schon von Wedenski wahrgenommene thierische Gummi (Harndextrin) fällte Baisch[2]) aus der concentrirten Lösung des mit dem Aethylat verseiften Benzoats mit viel Alkohol; es wird dabei stark salzhaltig gewonnen. Nach Lemaire[2]) scheidet sich das Harndextrin aber schon während des Verseifens in der alkoholischen Lösung ab. Es wird abfiltrirt und wiederholt in Wasser gelöst und mit Alkohol gefällt. Es ist amorph, löst sich völlig klar in Wasser, die Lösung färbt sich mit Jod nicht braun (Lemaire), das Dextrin ist also vom Glykogen verschieden, die Substanz giebt mit α-Naphtol eine starke Furfurolreaction, reducirt alkalische Kupferoxydlösung nicht (Baisch), giebt mit Kupfervitriol und Natronlauge einen blauen Niederschlag, der beim Kochen nicht schwarz wird (Lemaire) und liefert erst bei langem Kochen mit verdünnter Schwefelsäure eine Kupferhydrat in alkalischer Lösung reducirende Substanz (Baisch, Lemaire); der Körper ist vollkommen stickstofffrei (Lemaire) und giebt mit Ferrocyankalium sowie mit Millon's Reagens keine Eiweissreactionen (Baisch). Die Substanz stimmt also völlig mit dem thierischen Gummi überein.

Welcher Verbindung der in den Estern regelmässig enthaltene Stickstoff angehört, hat sich nicht ermitteln lassen. Eiweiss enthalten sie nicht; Harnstoff

---

1) Baisch, a. a. O. **19**. 364. 1894, **20**. 248. 1894. — Lemaire, a. a. O. **21**. 444. 1895.

2) Baisch, a. a. O. **19**. 357. — Lemaire, a. a. O. 451.

giebt bei dem Verfahren, nach welchem die Ester aus Harn erhalten werden, nach Lehmann selbst in 30 proc. Lösung keinen Niederschlag, eine 5 proc. Kreatininlösung nur eine geringe Abscheidung. Es ist an das Chondrosin, das stickstoffhaltige Spaltungsproduct der Chondroitinschwefelsäure gedacht worden. Es sei daran erinnert, dass Fr. Müller[1]) aus der Benzoylverbindung der Mucose, der reducirenden Substanz aus Schleim, durch Verseifen mit salzsäurehaltigem Alkohol eine dem Glykosamin mindestens nahe stehende Substanz erhielt.

Das in so grosser Menge von Stadthagen und Brieger aus einem zuckerfreien Harn bei Werlhof'scher Krankheit abgeschiedene Benzoat löste sich zum grössten Theil in Alkohol, schmolz nach wiederholtem Lösen in Alkohol und Fällen mit Wasser bei 60° und besass die Zusammensetzung des Tetrabenzoyl-Traubenzuckers (gefunden 68,46 % C, 5,16 H; berechnet 68,45 % C, 4,70 H); der Ester reducirte aber weder für sich noch nach dem Erwärmen mit Schwefelsäure alkalische Kupferhydratlösung. Die höher benzoylirten Traubenzucker reduciren nach Baumann[2]) gleichfalls nicht.

B. Die Farben-(Furfurol)-Reactionen.

Zucker und die Kohlenhydrate überhaupt (Guyard) werden durch Schwefelsäure unter Bildung von Furfurol zersetzt, das Furfurol wird aber, selbst in Spuren, erkannt an den farbigen Verbindungen, welche es mit gewissen Substanzen giebt. Für den Nachweis von Furfurol ist von Schiff das Xylidin, für den der Kohlenhydrate in diesem Sinne von Molisch[3]) α-Naphtol und Thymol verwendet worden. Geeignet dazu ist auch das Resorcin. Ausschliesslich für den Nachweis von Pentosen dienen das Phloroglucin und das Orcin. Jeder normale Harn giebt diese Farbenreactionen, für die Untersuchung des Harns sind aber nur die mit α-Naphtol in der von v. Udránsky angegebenen Form in Gebrauch gekommen.

v. Udránszky sowie Leuken[4]) haben noch eine grosse Anzahl Substanzen aufgezählt, welche mit Furfurol Farbenreactionen zeigen können.

Von den im Harn vorkommenden Stoffen geben Furfurolreactionen der Traubenzucker (und andere Hexosen), die Isomaltose und das thierische Gummi (Baisch), die Glykuronsäure (v. Udránszky, Luther), die Pentosen, Eiweiss. Das Harnmucoid liefert nach K. A. H. Mörner[5]) mit α-Naphtol nur eine vorübergehende rothe, keine violette Färbung. Das Verhalten der glykosidartigen Chondroitinschwefelsäure und Nucleinsäure ist nicht bekannt. Phenol, Brenzkatechin, Harnstoff, Harnsäure, Xanthin, Allantoin, Kreatin, Hippursäure dagegen geben nach Molisch diese Reaction nicht.

---

[1]) V. Lehmann, Ztschr. f. physiol. Ch. **17**. 405. — Fr. Müller, Sitzungsb. der Gesellsch. zur Beförderung der gesammten Naturw. zu Marburg 1896. 71.

[2]) Baumann, Berichte der chem. Gesellsch. **19**. 3219. 1886.

[3]) A. Guyard, Bull. de la Soc. chim. [2] **41**. 289. 1884. — H. Schiff, Berichte d. chem. Gesellsch. **20**. 540. 1888. — H. Molisch, Monatshefte f. Ch. **7**. 198. 1886; Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1888. 34 und 49.

[4]) v. Udránszky, Ztschr. f. physiol. Ch. **12**. 358. 1888. — C. Leuken, Apothekerztg. **1**. 246; Ztschr. f. anal. Ch. **26**. 259. 1887.

[5]) K. Baisch, Ztschr. f. physiol. Ch. **19**. 364. und 357. — E. Luther, Ueber das Vorkommen von Kohlenhydraten im normalen Harn. Freiburger Diss., Berlin 1890. 38. — v. Udránszky, a. a. O. 389. — K. A. H. Mörner, Skandin. Archiv. **6**. 346. 1895.

1. Die Reaction mit α-Naphthol verläuft in der von v. Udránszky angegebenen Form in folgender Weise. Unterschichtet man eine verdünnte Zuckerlösung (0,5 cc), der ein Tropfen 15 proc. (oder kalt gesättigter) alkoholischer α-Napthollösung zugesetzt ist, mit (1 cc) concentrirter Schwefelsäure, so entsteht an der Grenzschicht zuerst ein (nicht zur Reaction gehöriger) grüner Saum und darüber nach kurzer Zeit ein dunkelvioletter Ring. Schüttelt man jetzt unter Abkühlung, so erscheint die Flüssigkeit carminroth mit einem Stich ins Blaue und zeigt vor dem Spectroskop einen später verschwindenden schmalen Streifen zwischen D und E, sowie von F an bis an das violette Ende Verdunkelung. Die Reaction ist sehr empfindlich. Nach v. Udránszky gelingt sie noch gut mit einem Tropfen einer 0,06 proc. Zuckerlösung, bei 0,05 % ist sie schon etwas undeutlich. Luther dagegen, sowie Roos finden bei etwas anderer Ausführung der Probe die Grenze der Empfindlichkeit bei 0,01—0,02, Treupel sowie Binet[1]) bei 0,01 % Zucker (s. nächste Seite).

Soll die Reaction auf Kohlenhydrate allein bezogen werden, so ist nur eiweissfreier Harn zu verwenden.

Bei Anstellung der Probe sind von Luther[2]) einige Umstände hervorgehoben worden, welche für das Gelingen und die Beurtheilung derselben von Bedeutung sind.

Bei Anstellung der Reaction mit Furfurol liegt der Absorptionsstreifen, wie v. Udránszky angegeben hat, so gut wie mitten zwischen D und E. Zucker verhält sich aber anders. Mit einer 0,5 proc. Zuckerlösung tritt zuerst ganz dicht bei D nach Grün zu ein schmaler tiefdunkler, nach Grün verwaschener, nach Roth schärfer begrenzter Streifen auf, und auf D selbst ein zweiter schmaler Streifen. Beide fliessen nach einiger Zeit ineinander über und die Verdunkelung breitet sich über Grün hin aus, das Roth bleibt aber noch länger sichtbar; zuletzt ist das ganze Spectrum ausgelöscht. Treupel bestätigt diese Erfahrungen. — Den verschiedenen Spectren entspricht eine verschiedene Farbe der Mischung; mit Furfurol ist sie fast rein rothviolett, mit Zucker mehr blauviolett.

Von Wichtigkeit ist die Beschaffenheit der Reagention. Der grüne Saum, welchen v. Udránszky wahrnahm, rührt von einem Gehalt der Schwefelsäure an Salpetersäure oder salpetriger Säure her. Eine in dieser Weise stark verunreinigte Säure beeinträchtigt die Reinheit und Empfindlichkeit der Probe in empfindlicher Weise, die Mischung erscheint dann grün und giebt einen Absorptionsstreifen zwischen D und E. Eine Schwefelsäure ist aber dann noch brauchbar, wenn nach dem Unterschichten einer Mischung von 0,5 cc Wasser und 6 Tropfen Napthollösung mit 1 cc Schwefelsäure ein grüner Ring erst nach mehreren Minuten sichtbar wird und die gemischte Probe nur gelb ist, ferner wenn beim Mischen von einem Tropfen Naphthollösung mit 1 cc der Säure nur eine sehr schwache Grünfärbung auftritt und diese fast augenblicklich einer Gelbfärbung Platz macht.

---

1) v. Udránszky, a. a. O. 364 und 385. — Luther, a. a. O. 12. — E. Roos, Ztschr. f. physiol. Ch. **15**. 519. 1891. — G. Treupel, daselbst **16**. 54. 1891. — P. Binet, Revue méd. de la Suisse rom. **12**. 69; Jahresb. f. Thierchem. 1892. 506.

2) Luther, a. a. O. 7.

Das Wasser darf keine salpetrige Säure enthalten. Prüfung wie die der Schwefelsäure. (Von salpetriger Säure freies Wasser erhält man durch Destillation mit Permanganat).

Das α-Naphtol ist durch Destillation zu reinigen; aus Alkohol umkrystallisirtes Naphthol kann mit Schwefelsäure noch die Furfurolreaction geben. Da absoluter Alkohol, auch nach der von v. Udránszky gewählten Behandlung desselben mit Thierkohle noch die Furfurolreaction geben kann, so bedient sich Luther des Chloroforms als Lösungsmittel für das Naphtol. Wegen der Flüchtigkeit dieses zieht Treupel acetonfreien Methylalkohol vor. Nach Waller[1]) lässt sich Aethylalkohol durch Behandeln mit Permanganat von Furfurol befreien.

Es ist selbstverständlich, dass man bei der Ausführung der Reaction völlig reine Reagensgläser verwendet. Im Uebrigen verfährt man nach Luther so, dass man zu einem Tropfen der Naphthollösung aus der Spritzflasche 0,5 cc Wasser hinzusetzt und darunter 1 cc Schwefelsäure fliessen lässt. Durch ganz sanftes Schütteln beschleunigt man das Auftreten des Streifens an der Grenzschicht, und darnach stellt man die Mischung her. Die Färbungen sind am besten zu sehen, wenn man das Glas bei auffallendem Licht gegen einen rein weissen Hintergrund (ein Blatt Papier) betrachtet. Der Zusatz von Wasser ist nöthig, damit sich die Probe bis zu dem für den Eintritt der Reaction erforderlichen Grad erwärmt.

Die Grenze der Empfindlichkeit fand Luther anders als v. Udránszky. Ein Tropfen reiner 0,02 proc. Traubenzuckerlösung giebt nach 2—3 maligem sanften Schütteln sofort einen, wenn auch schwachen, doch deutlich wahrnehmbaren violetten Saum; und die gemischte Flüssigkeit lässt noch binnen einer Minute eine leichte röthliche Färbung erkennen, namentlich neben einer Vergleichsprobe ohne Zucker. Selbst mit einer nur 0,01 proc. Lösung treten diese Erscheinungen noch ein, aber sehr schwach und erst nach längerer Zeit (vergl. S. 68). — Verschiedene Zuckerarten geben aber nach Luther[2]) verschiedene Werthe.

Nach Neitzel[3]) lässt sich statt α-Naphtol auch Kampher verwenden, bei welchem kleine Nitratmengen ohne Einfluss auf die Reaction sind.

2. Thymol giebt nach Molisch in 15—20 proc. alkoholischer Lösung unter gleichen Verhältnissen wie bei der Probe mit α-Naphtol eine zinnober-, bis rubin-, bis carminrothe Farbe der Mischung. Die Reaction gelingt mit Zucker, Kohlenhydraten und Glykosiden und ist annähernd so scharf wie die mit α-Naphtol. Nach v. Udránszky ist das Thymol für den Nachweis von Kohlenhydrat im Harn wenig geeignet, weil die Farbenreaction unter Umständen schwer von der Verfärbung des Harns mit Schwefelsäure allein zu unterscheiden sein kann.

3. Die Xylidin-Reaction von Schiff stellt man in der Weise an, dass man Papierstreifen mit einer mit ganz wenig Alkohol versetzten Mischung gleicher Volume Xylidin und Eisessig benetzt, sie völlig trocknen lässt und den Furfuroldämpfen aussetzt. Das Papier färbt sich dabei roth. Die Reaction tritt noch ein beim Erwärmen eines Tropfens einer 0,2 proc. Traubenzuckerlösung mit 1 cc Schwefelsäure

---

[1]) v. Udránszky, a. a. O. 366. — G. Treupel, a. a. O. **16**. 53. — E. Waller, Chem. News. **61**. 53; Ztschr. f. anal. Ch. **30**. 48.

[2]) Luther, a. a. O. 27.

[3]) Neitzel, Ztschr. f. anal. Ch. **35**. 589. 1896.

(v. Udránszky). Nach v. Udránszky gelingt die Schiff'sche Reaction in vielen Fällen noch, wenn man nur einen Tropfen Harn mit concentrirter Schwefelsäure erwärmt. — Anilinacetat leistet denselben Dienst.

4. Phloroglucin. Erwärmt man Salzsäure von 1,09 Dichte mit etwas mehr Phloroglucin, als sich lösen kann und einer der die Reaction gebenden Substanzen gelinde, so tritt nach Wheeler und Tollens allmählich eine kirschrothe Färbung ein, und die Flüssigkeit zeigt nach Allen und Tollens einen Absorptionsstreifen ziemlich genau in der Mitte zwischen D und E. Die Flüssigkeit trübt sich bald unter Abscheidung eines in Wasser unlöslichen dunklen Niederschlags, dessen alkoholische Lösung nach Tollens Farbe und Spectrum der ursprünglichen Flüssigkeit zeigt. Die Reaction, welche zuerst Ihl als charakteristisch für das Arabin betrachtete, wird erhalten von den Pentosen und allen Verbindungen, welche beim Erwärmen mit Säuren Pentosen liefern, sowie nach Tollens[1]) von der freien und der gepaarten Glykuronsäure, aber nicht von den Hexosen und ihren Verwandten, auch nicht von der Rhamnose.

Von der Galaktose und Substanzen, welche diese enthalten, erhält man einen Niederschlag, dessen alkoholische Lösung zwar auch eine rothe Farbe besitzt, aber den Absorptionsstreifen nicht aufweist.

Die Lösung des Phloroglucins in der Salzsäure darf sich weder beim Erwärmen noch beim Stehen roth färben, was besonders dann eintritt, wenn eine Spur Salpetersäure zugegen ist. Man kann durch kurzes Einleiten von schwefliger Säure oder Erwärmen mit etwas Sulphit die Rothfärbung ohne Schaden für das Reagens beseitigen, oder durch Behandeln der Lösung mit Thierkohle.

Der Absorptionsstreifen ist noch wahrnehmbar bei Verwendung einiger cc einer 0,2 proc. oder noch schwächeren Pentoselösung, sowohl in der Flüssigkeit direkt, wie in der alkoholischen Lösung des Niederschlags.

Soll die Reaction mit einer Lösung angestellt werden und nicht mit fester Substanz, so hat man sie auf den erforderlichen Salzsäuregehalt zu bringen.

5. Orcin. Eine Lösung von 0,5 g Orcin in 100 cc Salzsäure von 1,09 Dichte färbt sich nach Allen und Tollens beim Erwärmen mit einer Pentose röthlich, dann röthlich-blau und scheidet blau-grüne Flocken ab, welche sich in Alkohol mit schön grünblauer Farbe lösen. Die Lösung zeigt einen dunklen Absorptionsstreifen zwischen C und D, nahe an D und zum Theil auf D. Ausser den Pentosen und den Pentose liefernden Substanzen wird die Reaction noch erhalten von Glykuronsäure und ihren glykosidartigen Verbindungen (Tollens[2]).

---

1) H. J. Wheeler u. B. Tollens, Ber. d. chem. Gesellsch. **22**. 1046. 1889; Ann. d. Chemie **254**. 329. 1889. — E. W. Allen und Tollens, Ann. d. Ch. **260**. 304. 1890. — Tollens, Ber. d. chem. Gesellsch. **29**. 1202. 1896. — A. Ihl, Chemiker-Ztg. **11**. 19. 1887. — Tollens, Landwirthsch. Versuchsstationen **39**. 450. 1891.

2) E. W. Allen und B. Tollens, Ann. d. Ch. **260**. 305. — Tollens, Versuchsstat. **39**. 450.

Die Violettfärbung ist zuerst von Reichl beim Kochen von Gummi mit Orcin und concentrirter Salzsäure wahrgenommen worden; nach ihm geben Traubenzucker, Rohrzucker, Milchzucker, Dextrin, Stärkemehl, Cellulose keine solche Färbung. Reinitzer erhielt beim Kochen von Milchzucker mit Orcin und Salzsäure eine rothe Lösung und einen schmutzig violettrothen Niederschlag, der sich in Alkohol mit rother Farbe löste. Bertrand[1]) beschrieb die Farbenreaction aber nicht das Spectrum.

6. Resorcin. a. Erwärmt man nach Seliwanoff eine Lösung von Resorcin in mässig verdünnter Salzsäure mit Levulose schnell, so färbt sich die Flüssigkeit roth und setzt einen dunklen, in Alkohol mit schön rother Farbe löslichen Niederschlag ab. Zucker, welche bei der Behandlung mit Salzsäure Levulose liefern (Rohrzucker und Raffinose), geben diese Reaction auch, dagegen Dextrose, Galaktose, Maltose, Milchzucker nicht, ebensowenig nach Tollens[2]) Mannose und die Pentosen (Ketosenreaction).

Ihl und Pechmann erhielten auf Zusatz von Levulose zu einer erwärmten concentrirten alkoholischen, mit etwas Salzsäure versetzten Resorcinlösung eine zwiebelrothe Färbung. — Die Seliwanoff'sche Reaction tritt nach Miura am Schönsten ein, wenn man eine Mischung von 1 Vol. concentrirter Salzsäure und 2 Vol. Wasser mit wenig Resorcin und einer Spur Levulose erhitzt. — Versetzt man nach E. Fischer[3]) eine Lösung von Levulose oder Sorbose in der vierfachen Menge Wasser mit 2 Mol. Resorcin und leitet unter Kühlung Chlorwasserstoff bis zur Sättigung ein, so färbt sich die Flüssigkeit sogleich rosa, nach kurzer Zeit dunkelroth und scheidet nach mehrstündigem Stehen einen dunkelrothen in Wasser unlöslichen Niederschlag ab, der wohl mit dem von Seliwanoff erhaltenen Produkt identisch ist.

b. Die Aldosen vereinigen sich nach E. Fischer und Jennings[4]) in starker Salzsäure mit mehratomigen aromatischen Alkoholen (Resorcin, Pyrogallol) zu Verbindungen, welche mit Oxydationsmitteln (Kupferhydrat in alkalischer Lösung, Bleisuperoxyd, Quecksilberoxyd, Silberoxyd) eine prächtig fuchsinrothe Färbung annehmen.

Zur Ausführung der Reaction werden 2 cc der verdünnten wässrigen Zuckerlösung mit 0,2 g Resorcin versetzt und unter Kühlung (10⁰) mit Chlorwasserstoff gesättigt. Ist einigermaassen viel Kohlenhydrat vorhanden, so kann man die entscheidende Probe schon nach 1 Stunde vornehmen, sonst lässt man die Proben 12 Stunden bei Zimmertemperatur stehen. Man verdünnt mit Wasser, übersättigt mit Lauge und erwärmt mit Fehling'scher Lösung, bei Gegenwart von wenig Zucker nur mit einigen Tropfen, wobei eine rothviolette Färbung eintritt, die bei wenig Zucker nach einiger Zeit wieder verschwindet. Unlösliche Substanz zerreibt man und behandelt sie nach Zusatz von Wasser wie die Lösung. (Die er-

---

[1]) C. Reichl, Ber. d. österr. Gesellsch. zur Förderung der chem. Industrie **1**. 74. 1879; Ztschr. f. anal. Ch. **19**. 357. — F. Reinitzer, Ztsch. f. physiol. Ch. **14**. 458. 1890. — G. Bertrand, Bull. de la Soc. chim. [3] **5**. 932; **6**. 259. 1891.

[2]) Th. Seliwanoff, Ber. d. chem. Gesellsch. **20**. 181. 1887. — Tollens, Versuchsstat. **39**. 421.

[3]) A. Ihl und A. Pechmann, Chem. Centralbl. 1885. 761. — K. Miura, Ztschr. f. Biologie. **32**. 262. 1895. — E. Fischer, Ber. der chem. Gesellsch. **27**. 1359.

[4]) E. Fischer u. W. L. Jennings, Ber. d. chem. Gesellsch. **27**. 1355. 1894.

forderliche kleine Menge Salzsäure erhält man leicht nach einer Abänderung des Verfahrens von Koninck[1]), indem man in einer Gasentwicklungsflasche concentrirte Schwefelsäure auf grobe Salmiakstücke tropfen lässt.)

Die Reaction wurde erhalten mit Traubenzucker, Galaktose, Maltose, Rohrzucker, Milchzucker, Dextrin, Stärkemehl, Glykogen, Baumwollcellulose, Glucoheptose, Xylose, Arabinose, Gummi. Auch mit Levulose wird sie erhalten, wenn man die mit Salzsäure gesättigte Lösung nicht lang (nur 2 Stunden) stehen lässt. Normaler Harn giebt sie sehr stark. Die Reaction ist sehr empfindlich, von der Arabinose wird sie noch bei 1:50000 erhalten.

C. **Das Reductionsvermögen des normalen Harns.** Normaler Harn reducirt Kupferoxyd und Quecksilberoxyd in alkalischer Lösung und führt bei alkalischer Reaction Orthonitrophenylpropiolsäure in Indigblau über. Für die Frage nach dem Nachweis der Kohlenhydrate kommen diese Reactionen jedoch entweder gar nicht, oder in nur sehr untergeordneter Weise in Betracht. Das Reductionsvermögen des normalen Harns für Metalloxyde hat wesentlich nur als Fehlerquelle beim Nachweis und der quantitativen Bestimmung des Zuckers analytische Bedeutung.

Mit Fehling'scher Lösung kann man das Reductionsvermögen normalen Harns nur so annähernd bestimmen, dass man, wie zuerst Flückiger[2]) gethan hat, ermittelt, mit wie viel Traubenzuckerlösung von bekanntem Gehalt ein bestimmtes Volumen Harn versetzt werden muss, um ein bestimmtes Volumen Fehling'scher Flüssigkeit geradeauf zu reduciren. Der Unterschied zwischen der für die Fehling'sche Lösung erforderlichen Menge Zucker und der wirklich verbrauchten ergiebt das Reductionsvermögen des Harns, ausgedrückt in Traubenzuckermengen.

Je nach den Modificationen dieser Methode hat man verschiedene Werthe gefunden. Nach Flückiger reducirt normaler Harn so stark, wie eine 0,15 bis 0,25 %ige Traubenzuckerlösung, nach Salkowski[3]) wie eine 0,4 %ige, (0,254 bis 0,596) und bei Bestimmung des Kupferoxyduls als Rhodanür wie eine 0,76 %ige (0,38—0,93), nach Munk[4]) wie eine solche von 0,3 % (0,16—0,47 %) und in der Regel proportional der Dichte des Harns. Moritz[5]) fand mittelst ammoniakalischer Kupferlösung das Reductionsvermögen des Harns gleich einer Zuckerlösung von 0,11—0,23—0,36 %. Bei Anwendung von Knapp'scher Lösung beobachtete Worm-Müller[6]) eine Reduction, welche einer Lösung von 0,05—0,4 % Zucker gleich kam. Hundeharn reducirt stärker als Menschenharn (Flückiger, Munk). Pferdeharn schwächer (Hagemann[7]).

An der Reduction betheiligen sich von bekannten Harnbestandtheilen die Harnsäure und das Kreatinin. Nach Worm-Müller's[8]) Schätzung entfällt von dem Reductionsvermögen des normalen menschlichen Harns ungefähr $^1/_4$ auf die

---

1) L. L. de Koninck, Ztschr. f. anal. Ch. **19**. 467. 1880.
2) M. Flückiger, Ztschr. f. physiol. Ch. **9**. 333. 1885.
3) E. Salkowski, Centralbl. f. d. med. Wiss. 1886. 161; Ztschr. f. physiol. Ch. **17**. 237. 1892.
4) I. Munk, Virchow's Archiv **105**. 70, 1886.
5) F. Moritz, Archiv f. klin. Med. **46**. 217. 1890.
6) Worm-Müller, Pflüger's Archiv **33**. 211. 1884.
7) Hagemann, Pflüger's Archiv **43**. 501. 1888.
8) Worm-Müller, Pflüger's Archiv **27**. 129.

Harnsäure, ein unbedeutender Theil auf das Kreatinin und 0,01—0,02 % auf vergährbare Substanz; Salkowski schätzt die durch Harnsäure und Kreatinin bewirkte Reduction auf $^1/_6$—$^1/_5$ der Gesammtreduction. Nach Moritz verläuft die Reduction annähernd proportional dem Stickstoffgehalt und entfällt auf Harnsäure und Kreatinin die Hälfte des Reductionsvermögens. Durch Zusatz von $^1/_{20}$ Vol. kalt gesättigter Natriumacetat- und $^1/_4$ Vol. kalt gesättigter Sublimatlösung zu Harn kann man nach St. Johnson[1]) die Harnsäure und das Kreatinin fällen. Entfernt man aus dem Filtrat das überschüssige Quecksilber mit Schwefelwasserstoff, so erhält man nach meiner Erfahrung beim Kochen mit Fehling'scher Lösung schönere Oxydulniederschläge als vorher; fällt man dagegen nach Johnson[2]) das überschüssige Quecksilber durch vorsichtigen Zusatz von verdünntem Ammoniak aus, so verliert die Flüssigkeit das Reductionsvermögen und in dem ausgewaschenen Niederschlag lässt sich nach dem Zerlegen desselben mit Schwefelwasserstoff nach Johnson gleichfalls keine reducirende Substanz nachweisen.

Flückiger hat weiter ermittelt, dass der Harn durch Eindampfen im Wasserbad $^5/_6$ seines Reductionsvermögens verliert, durch Eindampfen bei 60° bis zum Syrup aber nur $^1/_3$. Der reducirende Körper geht in Alkohol über, nicht in Aether, wird durch Barythydrat aus Harn nur zu einem kleinen Theil, aus dem Alkoholauszug in grösserer Menge gefällt; Bleizucker fällt ihn gleichfalls, noch besser Bleiessig und Bleiessig mit Ammoniak, aber nicht vollständig und es geht dabei die Hälfte verloren. Phosphorwolframsäure schlägt ihn theilweise nieder (Kreatinin und Harnsäure). Er kann ferner unter Umständen Kupferoxydul in Lösung halten und der Harnantheil, welcher die reducirende Substanz enthält, liefert bei der Oxydation mit Chromsäure Aceton. Kochen des Harns mit Salzsäure bewirkt eine geringe Erhöhung der Reductionsfähigkeit (Flückiger, Moritz, Salkowski); nach v. Udránszky[3]) wird aber die reducirende Substanz durch anhaltendes Kochen mit Salzsäure zerstört.

Die Substanz, welche ausser Harnsäure und Kreatinin die Reduction bewirkt, ist Flückiger geneigt, für eine Glykuronsäureverbindung zu halten, und zwar für eine mit einem stickstoffhaltigen Paarling, etwa von der Art, wie Schmiedeberg[4]) eine solche im Harn angetroffen hat. Es ist aber nicht bekannt, ob dieser Körper reducirt und der von Külz[5]) rein dargestellten Phenylglykuronsäure geht das Reductionsvermögen ganz ab. Wie v. Udránszky[3]) fand, ist die Ausbeute an Huminsubstanz beim Kochen des Harns mit Salzsäure proportional der Menge der reducirenden Substanz, sie könnte demnach auch den Kohlenhydraten nahe stehen.

Das Verhalten des Harns gegen Orthonitrophenylpropiolsäure hat Heckenhayn[6]) untersucht. Er fand, dass alle physiologischen und pathologischen Harne diese Säure beim Erwärmen mit etwas Natronlauge, wie Traubenzuckerlösung, zu Indigo reduciren; die Reduction ist aber nur sehr gering. Der Körper zersetzt sich in Lösung auch bei einer 100° übersteigenden Temperatur und in Gegenwart von verdünnter Schwefelsäure nicht, wohl aber in stark alkalischer Lösung; er wird durch Kohle nicht zurückgehalten, gefällt durch Bleiessig, dagegen nicht durch Bleizucker und Ammoniak, ist unlöslich in Aether, in absolutem Alkohol, in Aetheralkohol, dagegen leicht löslich in verdünntem Alkohol, und verflüchtigt sich weder bei der Destillation des nativen noch des angesäuerten Harns. Harnsäure und Kreatinin geben die Reaction nicht. Es ist dazu zu be-

---

1) G. Stillingfleet Johnson, Proc. of the London Roy. Soc. **42**. 365; Chem. News **55**. 304. 1887.

2) Johnson, Chem. News **66**. 91; Chem. Centralbl. 1892. **2**. 536.

3) v. Udránszky, Ztschr. f. physiol. Ch. **12**. 36. 1888.

4) Schmiedeberg, Archiv f. exper. Pathol. **14**. 307. 1881.

5) E. Külz, Pflüger's Archiv **30**. 485. 1883.

6) Heckenhayn, Ueber das Vorkommen reducirender Substanzen im Harn. Diss. Erlangen 1887.

merken, dass die Orthonitrophenylpropiolsäure nach Baeyer[1]) in alkalischer Lösung durch Indoxyl und Indoxylsäure zu Indigblau reducirt wird und es entsteht so die Frage, ob sich die normaler Weise im Harn vorkommenden Indoxylverbindungen gegen die Säure nicht ebenso verhalten.

B. Die einzelnen Kohlenhydrate.

Einige allgemeine Eigenschaften der Zucker.

1. Die Modificationen der Zucker und die Drehungsconstante. Tanret hat bei den von ihm untersuchten Zuckerarten (Glucose, Galaktose, Milchzucker, Arabinose, Xylose, Rhamnose) drei Modificationen unterscheiden können, denen für jede Zuckerart bei gleicher Molokulargrösse ein eigenes Drehungsvermögen, eine eigene Löslichkeit und nach Berthelot[2]) auch eine verschiedene Lösungswärme zukommt. Der bei gewöhnlicher Temperatur krystallisirte Zucker, Modification α besitzt die grösste spec. Drehung, der in (wässriger) Lösung befindliche Zucker bildet die Modification β, er besitzt diejenige constante spec. Drehung, welche den einzelnen Zuckerarten zugeschrieben wird. In Temperaturen von 100^0 oder etwas darüber oder darunter, sowie durch die Einwirkung von starkem Alkohol gehen die Zucker in die Modification γ über, mit der niedrigsten spec. Drehung; diese Umwandlung in γ in der Wärme erleidet am Leichtesten und Vollständigsten die Rhamnose (bei 90^0), durch Alkohol die Galaktose.

Die untersuchten Zucker sind, mit Ausnahme der Rhamnose rechtsdrehend; bei der Ueberführung der anderen Zucker aus α in β und aus β in γ nimmt die spec. Drehung ab. Die Drehungsänderung der Rhamnose verläuft in demselben Sinne, bei Rhamnose α beträgt $[\alpha]_D = -7^0$, bei $\beta + 10{,}1^0$, bei $\gamma + 22{,}8^0$.

In Lösung gehen die Modificationen in einander über, in wässriger Lösung α und γ in β, β in α, in alkoholischer Lösung entsteht auch etwas γ. Diese Umwandlung vollzieht sich in der Wärme schneller als in der Kälte, in wässriger Lösung schneller als in alkoholischer und darum ist es möglich, jede der Modificationen durch Alkohol rein und mit constanter spec. Drehung abzuschneiden und von den anderen zu trennen. Eine frisch bereitete Lösung eines gewöhnlichen Zuckers, d. i. der Modification α, besitzt eine höhere Drehung (Multirotation, Mehrdrehung), als die constante, und die Drehung sinkt allmählich mit dem Uebergang von α in β. Aber nur in genügend verdünnten Lösungen vollzieht sich die Umwandlung vollständig, in concentrirteren stellt sich ein Gleichgewicht zwischen den Modificationen ein, das bei

1) A. Baeyer, Ber. d. chem. Gesellsch. **14**. 1745. 1881.

2) C. Tanret, Comptes rendus **120**. 1060; **122**. 86; Bull. de la Soc. chim. [3] **13**. 728. 1895; **15**. 195 u. 349. 1896. — Berthelot, Comptes rendus **120**. 1019. 1895.

wässrigen Lösungen bedingt ist durch die Concentration, bei alkoholischen Lösungen durch diese und den Gehalt an Alkohol. In wässriger Lösung eines festen Zuckers ist nach constant gewordener Drehung der Gehalt an α um so grösser, je concentrirter die Lösung, und daraus erklärt sich das Ansteigen der spec. Drehung einer Zuckerlösung mit ihrer Concentration; eine Lösung von 2 Theilen Glucose in 1 Theil Wasser besitzt die spec. Drehung 56,6°, der gelöste Zucker würde aus 92,3 Theilen β und 7,7 Theilen α bestehen, und bei einer Lösung von 1 Theil Galaktose in 1 Theil Wasser beträgt $[\alpha]_D$ 85,3°, der in Lösung befindliche Zucker bestände aus 93,0 % β und 7,0 % α. Ebenso lässt sich der gleichartige Einfluss der Wärme und des Alkoholzusatzes auf die Grösse der spec. Drehung eines Zuckers auf die Umwandlung der einen Modification in die andere zurückführen.

Die Annahme, dass beim Uebergang der Multirotation in die constante eine Zuckermodification in eine andere übergehe, ist bereits von Urech, von Hammerschmidt und von Müller[1]) auf mathematischem Wege als in den beobachteten Thatsachen begründet erkannt worden.

Alkalien setzen die spec. Drehung einer Zuckerlösung sofort auf die constante herab und frisch bereitete Lösungen der Zuckerarten in 0,1 proc. Ammoniak weisen nach Schulze und Tollens[2]) überhaupt keine Multirotation, einige Zucker selbst eine geringere Drehung auf als die constante.

Bei dem Uebergange einer Modification in die andere handelt es sich um Aenderungen der Structur. Welche Vorstellungen man sich von der Art dieser zu machen hat, ist fraglich. Lobry de Bruyn[3]) hält es für möglich, dass die Uebergangsformen einer Zuckerart in die andere (B. 2.) diese Modificationen darstellen.

2. Die Umwandlung der Zuckerarten in einander. Versetzt man die Lösung eines (rechtsdrehenden) Zuckers mit einer selbst sehr geringen Menge Alkalihydrats, so sinkt nach Lobry de Bruyn[3]) die Drehung allmählich und wird schliesslich constant, bei Verwendung von Glucose, Fructose oder Mannose nähert sie sich Null, bei Verwendung von Galaktose sinkt sie von $[\alpha]_D = 81{,}6°$ auf 30°. Bei dem mit Glucose und Fructose angestellten Versuche hat sich ergeben, dass am Ende der Reaction neben dem verwendeten Zucker zwei neue vorhanden sind, neben Glucose noch Fructose und Mannose, neben Fructose noch Glucose und Mannose.

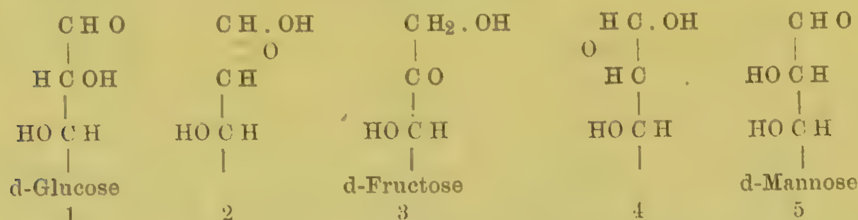
---

1) Urech, Ber. d. chem. Gesellsch. **12**. 2270. 1879. — R. Hammerschmidt, Ztschr. d. Vereins f. Rübenzuckerindustrie 1890. 418 u. 939; Ch. Centralbl. 1891. **1**. 213. — P. Th. Müller, Comptes rendus **118**. 425. 1894.

2) C. Schulze u. B. Tollens, Ann. d. Ch. **271**. 49. 1892. — Lobry de Bruyn, Ber. d. ch. Gesellsch. **28**. 3081.

3) C. A. Lobry de Bruyn, Recueil des travaux chim. des Pays-Bas **14**. 156; Chem. Centralbl. 1895. **2**. 1119. — Lobry de Bruyn u. W. Alberda van Ekenstein, Recueil **14**. 203; Berichte der chem. Gesellsch. **28**. 3078. 1896; Bull. de la Soc. chim. [3] **15**. 621; Chem. Centralbl. a. a. O.

Diese 3 Zuckerarten sind structurverwandt und unterscheiden sich nach E. Fischer's Lehre nur durch den Bau der ersten 2 Kohlenstoffglieder, wie in den folgenden Bruchstücken der Formeln 1. 3 und 5 veranschaulicht wird. Die Umwandlung der Zuckerarten in einander erklärt Lobry durch die Annahme einer Anlagerung und Abspaltung von Wasser und einer Atomverschiebung. Das gewöhnliche Hydrat des Traubenzuckers mit — CH(OH)$_2$ im ersten Glied bildet Anhydride, indem sich 2 Hydroxyle zu Wasser zersetzen, welches austritt, und zu O, welcher im Molekül bleibt. Diese 2 Hydroxyle können entweder die beiden im ersten Kohlenstoffglied enthaltenen sein, oder nur eines von diesen und ein in einem anderen Glied enthaltenes. Im ersteren Falle entsteht dann das gewöhnliche Anhydrid des Traubenzuckers mit — C.H.O im ersten Glied. Gehört das zweite Hydroxyl der zweiten Kohlenstoffgruppe an, so besitzt das Anhydrid in den ersten beiden die Gestalt wie in der 2. der unten dargestellten Formeln. Eine Ueberwanderung des Wasserstoffs aus dem 2. Glied in das 1. wird zur Formel 3 führen, eine Rückwanderung von Wasserstoff in entgegengesetztem Sinne zur stereoisomeren Form 4, Aufnahme von Wasser zunächst zum Hydrat CH(OH)$_2$ und Abgabe von Wasser zur Formel 5. Darnach stellt die Fructose bei dieser Reaction das vermittelnde Zwischenglied zwischen den beiden Aldosen dar, und dass dem so ist, ergiebt sich daraus, dass eine Mannoselösung durch Alkali zuerst ziemlich stark linksdrehend wird und sich die Drehung erst darnach dem Nullpunkt nähert. — Galaktose tritt nicht unter den Produkten auf, und das wird daraus verständlich, dass sie nach L. Fischer in der 2. (hier nicht gegebenen) Hälfte der Formel eine andere Structur besitzt, als die genannten 3 Zuckerarten. Die in festem Zustand bekannten Zucker würden so die stabile Form, die Zwischenglieder 2 und 4 die labile, in Lösung befindliche und somit zugleich die reactionsfähige (active) Form des Moleküls darstellen; die stabile Form entspräche Tanret's Modification α, die labile Form den beiden anderen Modificationen, oder wenigstens einer derselben, der Tanret'schen Modification β.



Zwischen den 3 Zuckerarten tritt ein chemisches Gleichgewicht ein, das jedoch gestört wird durch eine theilweise Umwandlung der Zuckerarten in Säuren.

Bei Verwendung von 25 cc Normalkali auf eine Lösung von 5 g Zucker in 50 cc Wasser wird die Drehung in der Kälte in 5 Tagen constant. In der Wärme läuft die Reaction in kürzerer Zeit ab. Es wird bei der Reaction kein Alkali verbraucht. Ammoniak, die alkalischen Erden, die Alkalicarbonate, Natriumacetat bewirken die Umlagerung von Zucker gleichfalls. Bleihydrat verwandelt nach Lobry und Alberda[1]) Glucose in Mannose, ohne dass dabei Fructose entsteht; Fructose wird durch Bleihydrat nicht verändert.

3. Verbindungen. a. Mit Alkoholen (Glucoside, Glykoside). In einer mit einer Mineralsäure versetzten Lösung einer Aldose (Hexose und Pentose) oder Ketose in Alkohol vereinigt sich der Alkohol nach E. Fischer[2]) mit dem Zucker zu einer äther- (oder acetal-)

[1]) Lobry de Bruyn und W. Alberda van Ekenstein, Recueil **15**. 92; Chem. Centralbl. 1896. **2**. 23.

[2]) E. Fischer, Ber. d. chem. Gesellsch. **26**. 2400. 1893; **27**. 2985; **28**. 1145. — E. Fischer und L. Beensch, daselbst **27**. 2478. — E. Fischer und W. L. Jennings, daselbst **27**. 1355.

artigen Verbindung, einem Glucosid. Die Vereinigung wird vermittelt durch das Hydroxyl der zwei stereoisomeren Formen der Zucker (wie 2 und 4 der oben gegebenen Formeln) und es sind daher auch stereoisomere Glucoside möglich (Fischer, Alberda van Ekenstein[1]). Sie drehen stärker als die Zucker, von denen sie abstammen, werden durch Alkalihydrat oder Fehling'sche Lösung, wenigstens bei kurzer Einwirkung, nicht verändert, geben mit Phenylhydrazin keine Verbindungen, ein Theil derselben wird auch nicht durch Invertin gespalten und gährt mit Hefe nicht. Kochen mit verdünnten Säuren zerlegt sie in ihre Bestandtheile.

Die Verbindung kommt zu Stande in der mit Chlorwasserstoff gesättigten Lösung in der Kälte, bei Gegenwart von nur wenig Mineralsäure beim Erwärmen. Solche Verbindungen sind erhalten worden von gesättigten und ungesättigten einatomigen und mehratomigen fetten Alkoholen (auch Allylalkohol und Glycerin), Aceton, Benzylalkohol, mehratomigen Phenolen, aber nicht einatomigen Phenolen. Zu den Verbindungen dieser Art gehören auch die gepaarten Glykuronsäuren.

b. Mit Thioalkoholen (Mercaptale). Nach E. Fischer[2]) vereinigen sich alle Aldosen mit allen fetten Mercaptanen zu acetatartigen Verbindungen, in welchen auf 1 Mol. Zucker 2 Mol. Thioalkohol kommen: $C_6H_{12}O_6 + 2\,HS.R = C_6H_{12}O_5(S.R)_2 + H_2O$. Sie reduciren alkalische Kupferoxydlösung nicht und verbinden sich nicht mit Phenylhydrazin. Durch Kochen mit verdünnten Säuren (5 proc. Salzsäure) werden sie in ihre Bestandtheile zerlegt. Ihre Bildung erfolgt so leicht, dass sie sich in Betracht ihrer Schwerlöslichkeit in manchen Fällen zur Isolirung und Erkennung der Zuckerarten eignen.

Zu ihrer Darstellung trägt man in die kalt bereitete Lösung des Zuckers in Salzsäure von 1,19 Dichte (oder Bromwasserstoff 1,49, oder 50 proc. Schwefelsäure oder 50 proc. Chlorzinklösung) das Mercaptan ein, worauf sich die Verbindung krystallinisch abscheidet. — Die Ketosen geben keine Mercaptale.

c. Mit Kupferhydrat. Nach Guignet[3]) werden manche Zuckerarten durch eine ammoniakalische Kupferoxydlösung, die kein freies Ammoniak enthält, niedergeschlagen.

Man erhält das Reagens krystallinisch, wenn man gepulvertes und bei 100° getrocknetes Kupfersulphat (oder Acetat) nach und nach in Ammoniak einträgt, noch einige Minuten kocht und erkalten lässt.

Traubenzucker und Galaktose werden durch das Reagens in einigen Augenblicken gefällt, ebenso Mannit und Dulcit, aber nicht Rohrzucker, Milchzucker, Levulose, Invertzucker [!], Gummiarten, Pectinkörper und Pflanzensäuren; einer Levulose- oder Invertzuckerlösung [!] zugesetzte Glucose wird durch das Reagens niedergeschlagen. Ein grosser Ueberschuss an Fällungsmittel ist wegen seiner lösenden Wirkung zu vermeiden. — Die Glucoseverbindung ist in Wasser wenig löslich und enthält nach dem Auswaschen kein Ammoniak. Sie löst sich leicht in

---

[1]) Alberda van Ekenstein, Recueil des travaux chim. des Pays-Bas **13**. 183. Chem. Centralbl. 1894. **2**. 760.

[2]) E. Fischer, Berichte d. chem. Gesellsch. **27**. 673 u. 3191. 1894. — W. T. Lawrence, daselbst **29**. 547.

[3]) Ch.-Er. Guignet, Comptes rendus **109**. 528. 1889.

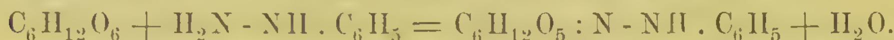
Ammoniak und die Lösung entfärbt sich bei gewöhnlicher Temperatur in einigen Tagen, in der Wärme in einigen Augenblicken. In der Lösung befindet sich ein in Wasser sehr leicht, in Alkohol ziemlich lösliches Ammonsalz mit allen Eigenschaften des gluconsauren Ammons. — Die Kupferverbindung des Mannits und Dulcits löst sich auch in Ammoniak, es tritt aber beim Kochen der Lösung keine Zersetzung ein.

d. Mit Ammoniak. Nach den Untersuchungen von Lobry de Bruyn[1]) und seiner Mitarbeiter Franchimont und van Leent gehen die verschiedensten Zucker (Hexosen, Pentosen, Biosen) nach der Auflösung in ammoniakalischem Methyl- (oder Aethyl-) Alkohol mit Ammoniak Verbindungen ein, von denen nur die des Milchzuckers ein Aldehydammoniak vorstellt. Von den anderen ist Lobry geneigt anzunehmen, dass der an zwei Kohlenstoffgruppen gebundene Sauerstoff (Formeln 2 und 4 S. 76) mit dem Wasserstoff des Ammoniaks Wasser bildet und der Ammoniakrest NH an die Stelle des Sauerstoffs tritt (Osamine).

Das Galaktosamin verbindet sich noch mit einem Mol. Ammoniak, das Rhamnosamin noch mit einem Mol. Alkohol. Die Verbindungen lösen sich in ammoniakalischem Aethylalkohol schwerer als in ammoniakalischem Methylalkohol, krystallisiren, drehen alle rechts, verbinden sich nicht mit Säuren, sondern werden durch Säuren in ihre Bestandtheile zerlegt und unterscheiden sich dadurch von den aus Osazonen erhaltenen säurebeständigen Osaminen.

e. Mit Hydrazinen.

α. Phenylhydrazin. Alle natürlichen und künstlichen Zuckerarten, welche Kupferoxyd in alkalischer Lösung reduciren, mit Einschluss des Milchzuckers und der Maltose, besitzen nach E. Fischer[2]) die Eigenschaft, sich mit 1 und 2 Mol. Phenylhydrazin, bei Gegenwart der Basis als Acetat, zu vereinigen. Die Verbindungen von 1 Mol. Phenylhydrazin, die Hydrazone, kommen bei der Digestion von Zucker mit essigsaurem Phenylhydrazin in der Kälte zu Stande nach



$$C_6H_{12}O_6 + H_2N - NH \,.\, C_6H_5 = C_6H_{12}O_5 : N - NH \,.\, C_6H_5 + H_2O.$$

Die Biosen beanspruchen auch nur 1 Mol. Phenylhydrazin. Die krystallisirenden Produkte sind mit Ausnahme des Hydrazons der Mannose und der Galaktose (E. Fischer, Jacobi[3]) leicht löslich; sie lassen sich nach E. Fischer[4]) durch concentrirte Mineralsäuren (rauchende Salzsäure) in ihre Bestandtheile zerlegen und ebenso leicht nach Herzfeld[5]) durch Benzaldehyd, wobei sich dieses an Stelle des Zuckers mit dem Phenylhydrazin verbindet.

1) C. A. Lobry de Bruyn, Recueil des trav. chim. des Pays-Bas **14**. 98. 134; **15**. 81; Berichte d. chem. Gesellsch. **28**. 3082. 1895; Chem. Centralbl. 1896. **2**. 23.

2) E. Fischer, Ber. d. chem. Gesellsch. **23**. 2118. 1890.

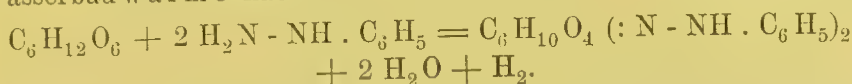
3) E. Fischer, daselbst **20**. 832. — E. Fischer u. J. Hirschberger, daselbst **21**. 1805. — H. Jacobi, Ann. d. Ch. **272**. 173.

4) E. Fischer u. J. Tafel, Berichte der chem. Gesellsch. **20**. 2569. — E. Fischer u. Hirschberger, a. a. O.

5) A. Herzfeld, daselbst **28**. 442.

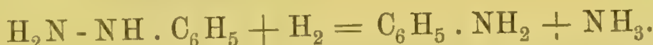
Aus dem Traubenzucker entstehen nach Skraup[1]) zwei stereoisomere Hydrazone; sie entsprechen den 2 activen Formen des Zuckers, die in den auf S. 76 gegebenen Formeln 2 und 4 dargestellt sind. Es wäre dann anzunehmen, dass der an zwei benachbarte Kohlenstoffe gebundene Sauerstoff derjenige sei, welcher mit dem Phenylhydrazin in Reaction tritt.

Die Verbindungen mit 2 Mol. Phenylhydrazin (Osazone) entstehen bei der Einwirkung von essigsaurem Phenylhydrazin auf Zucker in Wasserbadwärme nach



$$C_6H_{12}O_6 + 2\,H_2N\text{-}NH\,.\,C_6H_5 = C_6H_{10}O_4\,(:N\text{-}NH\,.\,C_6H_5)_2 + 2\,H_2O + H_2.$$

Der Wasserstoff wird dabei nicht frei, sondern führt ein drittes Mol. Phenylhydrazin in Anilin über nach



$$H_2N\text{-}NH\,.\,C_6H_5 + H_2 = C_6H_5\,.\,NH_2 + NH_3.$$

Näher bezeichnet werden diese Osazone nach ihrem Ursprung aus Phenylhydrazin und dem betreffenden Zucker, das Osazon des Traubenzuckers z. B. als Phenylglucosazon.

Die nur in den ersteren 2 Kohlenstoffgruppen verschiedenen, in den anderen aber structurgleichen Zucker, wie Glukose, Fructose und Mannose (Formeln S. 76) liefern dasselbe Osazon.

Die Osazone sind in Wasser fast unlöslich, leichter lösen sie sich in Alkohol, in kaltem wässrigen Alkali sind sie nach Will[2]) unlöslich, krystallisiren verhältnissmässig leicht, fallen selbst aus den verdünntesten Lösungen aus und sind darum für den Nachweis von Zucker sehr werthvoll. Sie unterscheiden sich durch ihre Löslichkeit, ihre Schmelzpunkte und ihr Drehungsvermögen und ermöglichen so auch eine Unterscheidung der Zucker selbst.

Die Osazone besitzen mit wenig Ausnahmen eine citronengelbe Farbe. Ihre Krystalle sind mikroskopisch klein und bieten in ihren Formen und ihrer Anordnung nur einen schwachen Anhalt zur Unterscheidung der Zuckerarten. In kaltem Wasser sind sie sehr schwer löslich, in heissem Wasser auch nicht leicht löslich. In heissem absoluten Alkohol lösen sich die einen leicht, die anderen schwer; die schwer löslichen lösen sich leichter in heissem 60proc. Alkohol. Die Osazone lassen sich in der Weise umkrystallisiren, dass man die alkoholische Lösung in Wasser giesst und den Alkohol wegkocht. In Aether, Chloroform, Benzol, Ligroin sind sie unlöslich; diese Flüssigkeiten lassen sich also zum Reinigen der Krystalle benutzen. Am Leichtesten lösen sie sich in heissem Eisessig und diese Lösung dient zur Untersuchung ihres Drehungsvermögens, aber diese Lösung färbt sich in Folge einer vor sich gehenden Zersetzung bald dunkel.

---

1) W. Skraup, Monatshefte f. Ch. **10**. 406. 1890.
2) W. Will, Berichte d. chem. Gesellsch. **24**. 402.

Die Verschiedenheit in der Löslichkeit findet ihren Ausdruck in der Menge Osazon, welche sich bei der Bildung aus gleichen Mengen Zucker aus dem gleichen Volumen Flüssigkeit abscheidet. Maquenne[1]) löste je 1 g Zucker in 100 cc Wasser und erwärmte die Lösung nach Zusatz von 5 cc einer Lösung von 40 g Phenylhydrazin und 40 g Eisessig in 100 cc Wasser 1 St. auf 100^0, wusch nach dem Erkalten auf einem getrockneten Filter mit 100 cc Wasser und trocknete bei 100^0. An Osazon lieferte Sorbose 0,82 g, Levulose 0,72 g, Xylose 0,40 g, wasserfreier Traubenzucker 0,32 g, Arabinose 0,27 g, Galaktose 0,23 g, Rhamnose 0,15 g, Milchzucker 0,11 und Maltose gleichfalls 0,11 g. Diese Zahlen sind jedoch kein Maass für die Mengen Osazon, welche man überhaupt erhalten kann; sie gelten nur für die gewählten Versuchsbedingungen.

Die Lösungen der meisten Osazone, auch des Glucosazons, in Eisessig drehen links, die des Galaktosazons lässt dagegen keine Drehung wahrnehmen. Xylosazon dreht in alkoholischer Lösung links, Arabinosazon dreht nicht (E. Fischer[2]).

Die Schmelzpunkte der Osazone liegen zwischen 160 und 200^0 und darüber. Nur die bei schneller Temperatursteigerung erhaltenen sind in Betracht zu ziehen; bei langsamem Erhitzen werden auch hier die Schmelzpunkte niedriger gefunden und zwar oft um Beträchtliches (bis 20^0).

Die Osazone reduciren in Wasser suspendirt alkalische Kupferhydratlösung, wie die Zucker und das Phenylhydrazin für sich.

Bei der Behandlung mit Zinkstaub und Essigsäure werden die Osazone zu stickstoffhaltigen basischen Körpern (Osaminen) reducirt und liefern bei der Behandlung mit salpetriger Säure Ketosen.

Phenylglukosazon giebt nach E. Fischer[3]) bei der Reduction eine Verbindung mit $-CO-CH_2.NH_2$ in den ersten 2 Gliedern der Kohlenstoffkette, das dem Glukosamin aus dem Chitin isomere Isoglucosamin, und dieses mit salpetriger Säure Fructose mit $-CO-CH_2.OH$. Diese Osamine sind gegen Säuren beständig und unterscheiden sich so von den durch Einwirkung von Ammoniak auf Zucker erhaltbaren gleichnamigen Körpern (S. 78).

Die Osazone geben bei der Behandlung mit rauchender Salzsäure Osone, Aldehyde der Ketosen, so nach E. Fischer[4]) der Traubenzucker Glucoson mit $-CO-C.H.O$, welches mit Phenylhydrazin wieder das Osazon liefert und beim Behandeln mit Zinkstaub und Essigsäure in Fructose übergeht. Ueber die Einwirkung von Lauge auf die Osazone berichtet Lintner[5]).

Das Nähere über die Bedingungen der Darstellung des Osazons ist angegeben beim Traubenzucker (dieser § B. II. 1. B. 4. g.).

β. Parabromphenylhydrazin kann eine ähnliche Verwendung finden wie das Phenylhydrazin. Das Bromphenylarabinosehydrazon ist schwer löslich (E. Fischer[6]); Xylose und Glucose geben in gleicher Weise kein Hydrazon.

γ. Diphenylhydrazin $H_2N-N(C_6H_5)_2$ liefert nach Stahel[7]) in alkoholischer Lösung bei 2stündigem Kochen oder in der Kälte in 2—3 Tagen mit Traubenzucker, Mannose, Galaktose, krystallinische schwer lösliche Hydrazone,

1) A. Maquenne, Comptes rendus **112**. 799. 1891.
2) E. Fischer, Berichte **23**. 2119.
3) E. Fischer, Berichte **19**. 1920. — E. Fischer u. J. Tafel, daselbst **20**. 2566.
4) E. Fischer, daselbst **21**. 2631 u. **22**. 87.
5) C. J. Lintner, Chemiker-Ztg. **20**. 763; Chem. Centralbl. 1896. **2**. 891.
6) E. Fischer, Berichte **27**. 2490.
7) R. Stahel, Ann. d. Ch. **258**. 242. 1890; Ztschr. f. anal. Ch. **33**. 228.

deren Schmelzpunkte (161—162⁰, 155⁰ und 157⁰) so nahe bei einander liegen, dass die Verbindungen schwerlich zur Unterscheidung dieser Zucker verwendet werden können. Levulose wird dagegen durch dieses Reagens nicht gefällt und es lässt somit eine Unterscheidung und Trennung dieser von den genannten Zuckerarten zu. Diese Hydrazone lösen sich in Alkohol und in heissem Wasser leicht und sind fast unlöslich in Aether, Benzol, Chloroform. Starke Salzsäure zersetzt sie in ihre Bestandtheile.

δ. Methylphenylhydrazin kann nach Alberda van Ekenstein und Lobry de Bruyn[1]) vortheilhaft zur Isolirung der Galaktose als Hydrazon verwendet werden. Zur Trennung der Glucose von der Fructose sind Benzyl- und Naphtylhydrazin dem Benzhydrazid (ε) vorzuziehen. Melibiose giebt mit Allylphenylhydrazin ein in Wasser unlösliches Hydrazon.

ε. Benzhydrazid giebt nach Wolff[2]) bei 5—6 st. Kochen mit 96 proc. alkoholischer Zuckerlösung ein Hydrazon $C_6H_5 . CO - HN - N : C_6H_{12}O_5$. Die Lösung wird eingedampft und das Produkt aus Alkohol umkrystallisirt. Das Dextrose-Benzhydrazon, schmilzt bei 171 und 172⁰, dreht links und wird durch siedendes Wasser in seine Bestandtheile zerlegt. Das in Freiheit gesetzte Benzhydrazid lässt sich durch Benzaldehyd abscheiden. Das Verfahren eignet sich zur Trennung der Aldosen von der Levulose. — Arabinosebenzhydrazon ist nach Subaschow[3]) in Alkohol unlöslich, Galaktosebenzhydrazon darin nur schwer löslich und entsteht viel langsamer als die Arabinoseverbindung.

ζ. Ueber die Benzoesäureester vergl. S. 64.

4. Die Alkoholgährung gehen nur diejenigen Zuckerarten ein, welche 3 Kohlenstoffgruppen oder Multipla derselben enthalten (Triosen, Hexosen, Nonosen) und von diesen auch nicht alle oder nur durch besondere Hefearten, wie die Galaktose. Auch die Stereoisomeren der vergährbaren Hexosen, wie l-Glucose oder l-Fructose gähren mit gewöhnlicher Bierhefe nicht oder nur schwach. Die Pentosen gähren überhaupt nicht. Verschiedene Alkoholhefen verhalten sich aber gegen die einzelnen Zuckerarten verschieden. E. Fischer und Thierfelder[4]) haben mit diesen Versuche ausgeführt und das bereits Bekannte zusammengestellt.

5. Zersetzungen. Die Hexosen (Dextrose, Levulose, Galaktose, Mannose, Maltose) liefern bei der Behandlung mit nicht oxydirenden Mineralsäuren neben viel Huminsubstanz Levulinsäure, Ameisensäure (Kohlenoxyd), Kohlensäure und geringe Mengen Furfurol (Tollens;

[1]) Alberda van Ekenstein u. L. A. Lobry de Bruyn, Recueil des travaux chim. des Pays-Bas **15**. 97 u. 225; Chem. Centralbl. 1896. **2**. 23 u. 705.

[2]) H. Wolff, Berichte d. chem. Gesellsch. **28**. 160. 1895.

[3]) E. Subaschow, Chem. Centralbl. 1896. **2**. 134.

[4]) E. Fischer u. H. Thierfelder, Berichte d. chem. Gesellsch. **27**. 2031. 1894.

Berthelot und André), die Pentosen dagegen keine Levulinsäure, aber viel (bis 50 %) Furfurol (Tollens[1]).

6. Die Bezeichnungsweise. Die stereoisomeren Zuckerarten sind von E. Fischer durch die Vorzeichen d, l und i unterschieden worden, womit anfangs ausgedrückt werden sollte, dass der Zucker rechts oder links dreht oder inactiv ist. Später wurden diese Vorzeichen, ohne Rücksicht auf die Drehungsrichtung, beibehalten für die Structurverwandten der bereits bezeichneten Zucker, so dass linksdrehende Zucker auch mit dem Zeichen d, rechtsdrehende auch mit dem Zeichen l versehen sind. So dreht z. B. die zum Traubenzucker, der d-Glucose gehörige d-Fructose (Fruchtzucker) links, die l-Arabinose, welche zu der mit Traubenzucker symmetrischen l-Glucose gehört, rechts.

I. Pentosen.



$C_5H_{10}O_5$.

A. *Vorkommen.* In grösserer Menge ist eine Pentose zuerst von Salkowski und Jastrowitz in zwei Fällen von »zuckerverdächtigen« Harnen und in zwei weiteren von Salkowski[2]) aufgefunden worden.

In dem einen Fall handelte es sich um einen Morphinisten, aber die Pentosurie bestand auch noch nach der Entwöhnung vom Morphin. Der Zustand schien chronisch zu sein; besondere krankhafte Erscheinungen waren nicht vorhanden. Einen ähnlichen solchen Fall hat Reale[3]) gleichfalls bei einem Morphinisten beobachtet und hier war die Pentose schon am 4. Tag nach der Entziehung des Morphins nicht mehr nachweisbar. Die Menge Osazon, welche Salkowski in 3 Fällen aus dem Harn gewann, die aber unter dem wahren Werth liegt, betrug für 100 cc 0,181, 0,193 und 0,335 g, was einem Gehalt des Harns an Xylose von mindestens 0,07—0,15 % entspricht.

Bei der Untersuchung von 80 diabetischen Harnen haben Külz und Vogel[4]) 4 mal keine Pentose auffinden können, 12 mal war die Phloroglucinreaction nur schwach oder zweifelhaft, aber in 64 Fällen konnte die Pentose durch die Farbenreaction und die spectroskopische Beobachtung nachgewiesen werden; auch wurde in mehreren Fällen die Pentose als Osazon aus dem Harn dargestellt und auf 1 Ltr. 0,1 g reine Verbindung erhalten. Bei mehreren Hunden mit Diabetes nach

---

[1]) v. Grote u. B. Tollens, Ann. d. Ch. **175**. 181. 1875 u. später. — Berthelot u. G. André, Comptes rendus **123**. 567 u. 625. 1896. — Stone u. Tollens, Berichte d. chem. Gesellsch. **21**. 2150; Ann. d. Ch. **249**. 227. 1888. — Wheeler u. Tollens, Ber. **22**. 1046; Ann. **254**. 304 u. 320. 1889. Günther u. Tollens, Ber. **23**. 1751. — Günther, de Chalmont u. Tollens, Ber. **24**. 3575.

[2]) E. Salkowski u. M. Jastrowitz, Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1892. 337. — Salkowski, Berliner klin. Wochenschr. 1895. 364.

[3]) E. Reale, Rivista clin. e terap. 3. 1894; Centralbl. f. innere Med. **15**. 680. 1894.

[4]) E. Külz u. J. Vogel, Ztschr. f. Biol. **32**. 185. 1895.

Pankreasexstirpation oder nach Darreichung von Phloridzin war Pentose stets vorhanden.

Auch normale Harne geben sehr oft die Pentosereaction; da sie aber auch von der Glykuronsäure und ihren Verbindungen erhalten wird, so ist sie nicht ohne Weiteres auf die Gegenwart von Pentose im Harn zu beziehen.

Unter 22 von Ebstein untersuchten normalen Harnen gaben 14 bei der Phloroglucinreaction auch das Absorptionsspectrum, wenn auch schwach. Nach Salkowski zeigt normaler Harn eine leichte Andeutung der Reaction. Bei der Untersuchung einer grösseren Anzahl normaler Harne vom Menschen und von Thieren ergab sich nach Külz und Vogel fast ausnahmslos eine zuweilen stärkere, zuweilen schwächere Reaction, und nach Cremer[1]) giebt fast jeder Harn die Reaction und das Spectrum.

Pentose geht leicht in den Harn über, viel leichter als ein anderer Zucker; und wenn man auch das Ergebniss nach sehr kleinen Gaben von Pentose, wegen der Zweideutigkeit der Reaction, nicht als beweisend erachtet, so ist doch das Auftreten grosser Mengen Pentose nach Verabreichung grösserer Mengen zweifellos.

Ebstein konnte schon nach Genuss von 0,05 g Xylose in vorher pentosefrei gefundenem Harn Pentose nachweisen; nach Darreichung grösserer Mengen (15—25 g) Xylose hielt die Ausscheidung mehrere Stunden an, es kam aber nicht aller Zucker wieder zum Vorschein. Tollens traf in den ersten Stunden nach Einfuhr von 2 g Arabinose reichlich Pentose im Harn an. Nach dem Genuss von 25 g Arabinose fand Cremer nur gegen 10 g im Harn wieder. Munk bestätigt dieses Ergebniss. Hungernde Kaninchen, denen (10 g) Arabinose beigebracht wurde, schieden nach Salkowski[2]) in den nächsten 14—19 Stunden 0,2 der verabreichten Menge wieder im Harn aus.

Möglicherweise ist die bei den Levulosen beschriebene Laiose auch eine Pentose.

B. Eigenschaften. Nach der von Salkowski[3]) veranlassten Elementaranalyse des Pentosazons aus Harn und den von Külz und Vogel ausgeführten Stickstoffbestimmungen ist Rhamnose ausgeschlossen; von den beiden anderen natürlichen Pentosen (Arabinose und Xylose) kommt wesentlich nur die Xylose in Betracht nach dem geringen Drehungsvermögen des Harns bei idiopathischer Pentosurie und nach der Beschaffenheit ihres Osazons.

1. Die Xylose (l-Xylose) krystallisirt in weissen prismatischen Nadeln (orthorhombischen Prismen Bertrand[4]), schmilzt bei 153—

[1]) W. Ebstein, Virchow's Archiv **129**. 401. 1892. — Salkowski, Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1892. 595. — M. Cremer, Ztschr. f. Biol. **29**. 541. 1893.

[2]) B. Tollens, Berichte d. chem. Gesellsch. **29**. 1208. 1896. — Cremer, a. a. O. 546. — I. Munk, Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1894. 83. — Salkowski, Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1893. 194.

[3]) Salkowski, Berliner klin. Wochenschr. a. a. O.

[4]) G. Bertrand, Bull. de la Soc. chim. [3] **7**. 499. 1892.

154° (Hébert, Tollens[1]), schmeckt schwach süss und löst sich sehr leicht in Wasser, schwer in Alkohol.

Nach Bertrand lösen sich 117 Thle in 100 Thln Wasser bei 20,3°; 100 cc der bei 20,3° gesättigten wässrigen Lösung enthalten 64,2 g Xylose. Absoluter Alkohol scheint sie nicht zu lösen, 10 cc 90 proc. Alkohol lösen bei 19° 0,329 g (Bertrand). In 80 proc. heissem Alkohol löst sich die Xylose leicht und krystallisirt beim Erkalten wieder aus (Tollens). Auch Methylalkohol löst sie. — Bei langsamem Erhitzen wird der Schmelzpunkt höher (160°) gefunden.

2. Sie dreht die Ebene des polarisirten Lichts nach rechts, $[\alpha]_D = 18{,}1°$ und besitzt eine starke Multirotation.

Als Anfangsdrehung wurde von Parcus und Tollens 77,9—78,6°, von Wheeler und Tollens 85,9° beobachtet. Die spec. Drehung ist abhängig von der Concentration, für Concentrationen bis 34,3%₀ beträgt nach Schulze und Tollens[2]) bei 20° (Dichte auf 4° bezogen)

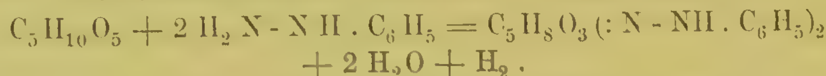
$$[\alpha]_D = 18{,}095 + 0{,}06986\,p$$

und für stärkere Concentrationen

$$[\alpha]_D = 23{,}089 - 0{,}1827\,p + 0{,}00312\,p^2.$$

Zwischen 15 und 20° hält sich die spec. Drehung constant, zwischen 20 und 25° steigt sie für jeden Grad um 0,068° und zwischen 25 und 30° für jeden Grad um 0,076°.

3. Beim Erwärmen einer Xyloselösung im Wasserbad mit essigsaurem Phenylhydrazin entsteht das Osazon $C_{17}H_{20}N_4O_3$ nach



$$C_5H_{10}O_5 + 2\,H_2N\text{-}NH\,.\,C_6H_5 = C_5H_8O_3(:N\text{-}NH\,.\,C_6H_5)_2 + 2\,H_2O + H_2\,.$$

Aus concentrirter (5 proc.) Lösung scheidet es sich zum Theil schon in der Wärme, aus verdünnter Lösung erst in der Kälte in langen goldgelben seidenglänzenden gebogenen und verfilzten Nadeln aus (Koch[1]) u. A.). Es schmilzt bei schnellem Erhitzen bei 159—160° (Wheeler und Tollens[2]), löst sich leicht in Alkohol, weniger leicht in Aceton, sehr wenig in Wasser (Hébert[1]), in heissem Wasser aber leichter als das Phenylglucosazon. Die Lösung des Xylosazons in Alkohol dreht dauernd stark links (E. Fischer[3]).

Allen u. Tollens[4]) bestimmten die spec. Drehung des Phenylxylosazons zu $[\alpha]_D = -43{,}4°$. Mit Bromphenylhydrazin giebt die Xylose kein schwer lösliches Hydrazon (E. Fischer).

4. Die Xylose färbt sich beim Erwärmen mit Natronlauge braun, reducirt Kupferhydrat in alkalischer Lösung und Wismuthhydrat bei Gegenwart eines fixen Alkalis. Sie giebt beim Erwärmen mit Bleiacetat

1) A. Hébert, Comptes rendus **110**. 969. 1890. — B. Tollens, Landwirthsch. Versuchsstationen **39**. 439. 1891. — F. Koch, Pharmac. Ztg. f. Russland **25**. 1886; Ber. d. chem. Gesellsch. **20**. Rf. 145.

2) E. Parcus u. Tollens, Ann. d. Ch. **257**. 175. 1890. — H. J. Wheeler u. Tollens, daselbst **254**. 311. 1889. — C. Schulze u. Tollens, daselbst **271**. 40. 1892.

3) E. Fischer, Berichte d. chem. Gesellsch. **23**. 385 u. 2119. 1890.

4) E. W. Allen u. B. Tollens, Ann. d. Chem. **260**. 295. 1890.

und Ammoniak (Rubner'sche Zuckerprobe, Traubenzucker D. 1. b.) schon unterhalb der Siedehitze einen orangefarbenen Niederschlag (Huppert).

Nach Stone[1]) wird 1 cc Fehling'sche Lösung durch 4,47 mg, nach Bertrand[3]) durch 4,56 mg Xylose reducirt, während zur Reduction derselben Menge Fehling'scher Lösung 5 mg Traubenzucker erforderlich sind. Die Xylose besitzt also ein grösseres Reductionsvermögen als die Glucose. Concentrirtere Lösungen der Xylose reduciren nach Stone etwas schwächer als verdünntere.

5. Mit Bierhefe gährt die Xylose nicht (Koch, Stone, Bertrand).

6. Bei der Oxydation mit Brom liefert sie Xylonsäure $C_5H_{10}O_6$ (Allen und Tollens), bei der Oxydation mit Salpetersäure inactive Trioxyglutarsäure $C_5H_8O_7$ (Wheeler und Tollens) und beim Erhitzen mit Mineralsäure (Salzsäure, Schwefelsäure) giebt sie keine Levulinsäure, sondern (gegen 50 %) Furfurol (Günther und Tollens[2]).

Das Cadmiumsalz der Xylonsäure giebt mit Cadmiumbromid nach Bertrand[3]) ein charakteristisches Doppelsalz. Zu seiner Darstellung schüttelt man die Lösung von 1 Thl. Xylose in 5 Thl. Wasser mit 1 Thl. Brom, bis sich das Brom gelöst hat, lässt 24 St. stehen, kocht das Brom weg, sättigt mit kohlensaurem Cadmium und dampft auf die Hälfte ein. Auf Zusatz des gleichen Volumens Alkohol fallen sogleich reichlich Krystalle der Verbindung $(C_5H_9O_6)_2Cd, CdBr_2, 2H_2O$ aus.

7. Die Xylose giebt mit Phloroglucin und mit Orcin die S. 70 beschriebenen Farben- (Furfurol-) Reactionen.

8. Die Arabinose unterscheidet sich von der Xylose nicht durch ihr Aussehen, die Löslichkeit und den Schmelzpunkt; sie dreht wie diese rechts, giebt wie diese Reductionsproben (4) und die Farbenreactionen (7) und gährt gleichfalls nicht mit Bierhefe. Ihr Osazon besitzt dasselbe Aussehen wie das Phenylxylosazon (gelb wie Schwefelarsen, in der Form geronnenem Eiweiss ähnlich, Kiliani[4]), dieselben Löslichkeitsverhältnisse und denselben Schmelzpunkt. Sie weicht aber in folgenden Eigenschaften von der Xylose ab.

a. Die Arabinose hat $[\alpha]_D = 104-105^0$, mit einer Anfangsdrehung von $156{,}7^0$ (Parcus und Tollens).

b. Das Osazon zeigt in alkoholischer Lösung eine Anfangsdrehung von $[\alpha]_D + 18{,}9^0$, die in einigen Stunden verschwindet (Tollens[5]); die Lösung erscheint dann inactiv. — Mit Bromphenylhydrazin giebt die Arabinose ein schwer lösliches Hydrazon (E. Fischer[6]).

c. Das Reductionsvermögen ist etwas grösser wie das der Xylose; es wird 1 cc Fehling'sche Lösung reducirt durch 4,3 mg Arabinose (Scheibler, Bauer, Stone[7]).

[1]) W. E. Stone, Berichte d. chem. Gesellsch. **23**. 3796.
[2]) A. Günther u. Tollens, Berichte d. chem. Gesellsch. **23**. 1751.
[3]) G. Bertrand, a. a. O. 556.
[4]) H. Kiliani, Berichte d. chem. Gesellsch. **20**. 345.
[5]) Tollens, Versuchsstat. **39**. 441.
[6]) E. Fischer, Berichte d. chem. Gesellsch. **24**. 4221; **27**. 2490. 1894.
[7]) Scheibler, Berichte d. chem. Gesellsch. **1**. 110. — Bauer, Versuchsstationen **36**. 304. — Stone, a. a. O.

d. Bei der Oxydation mit Brom giebt sie die der Xylonsäure isomere Arabonsäure, welche aber kein derartiges Cadmiumsalz bildet, wie die Xylonsäure (6). Die bei der Oxydation mit Salpetersäure aus Arabinose entstehende Trioxyglutarsäure ist mit der aus Xylose hervorgehenden blos isomer.

e. Die nach Araki[1]) beim Erhitzen von Arabinose mit Natriumcarbonat stattfindende Bildung von Milchsäure kommt vielleicht auch der Xylose zu.

C. Nachweis. In den Fällen, in welchen Salkowski Pentose im Harn fand, bot der Harn nichts Auffälliges dar, er gohr nicht mit Hefe, drehte nicht (oder nur schwach) rechts, gab bei der Nylander'schen Zuckerprobe keinen schwarzen, sondern einen grauen Niederschlag, reducirte aber bei der Trommer'schen Probe Kupferhydrat stark, aber nicht stärker, wie viele concentrirte normale Harne oder wie schwach zuckerhaltiger Harn. Dieser Umstand kann die weitere Untersuchung des Harns veranlassen. Pentosehaltiger Harn liefert, wenn er frei ist von Traubenzucker, bei der Gährung auch keine Kohlensäure. Reductionsfähig und gährungsunfähig ist aber auch ein Milchzucker enthaltender Harn.

1. Enthält ein Harn Pentose, so giebt er die Phloroglucinreaction (S. 70). Man kann sich dabei auf die Untersuchung des Harns allein beschränken (a), oder auch den bei der Probe entstehenden Niederschlag in Betracht ziehen (b). Für beide Fälle ist aber zu berücksichtigen, dass die bei der Reaction auftretende Rothfärbung allein Nichts für die Gegenwart von Pentose beweist, da sie nach Tollens auch mit Galactose und mit Zuckerarten, welche diese geben (Milchzucker, Raffinose), auftritt; rührt aber die Färbung von Pentose her, so ist auch der Absorptionsstreifen zwischen D und E wahrnehmbar, während er fehlt, wenn die Färbung durch Galactose hervorgerufen wurde.

Pentosefreier Harn, welchem 0,2 % Arabinose oder Xylose zugesetzt war, liess nach Tollens[2]) den Streifen im Niederschlag sehr deutlich erkennen, direkt im Harn dagegen meistens nicht, wohl aber wenn der Harn, in welchem die Pentose aufgelöst war, vor der Probe mit Kohle entfärbt worden war. Nach einem Zusatz von 0,1 % Pentose gab der Harn direkt keinen Streifen, mit dem Niederschlag jedoch denselben deutlich, bei noch geringerem Pentosezusatz war das Resultat zweifelhaft. Xylose scheint etwas leichter (bis zu 0,05 % im Harn) nachweisbar zu sein. — Da der Harn Glykuronsäure enthält und diese die Phloroglucinreaction auch giebt, so ist eine schwache Reaction für die Gegenwart von Pentose nicht beweisend.

---

1) T. Araki, Ztschr. f. physiol. Ch. 19. 463.
2) B. Tollens, Berichte d. chem. Gesellsch. 29. 1206. 1896.

Eiweiss braucht nach Ebstein aus dem Harn nicht entfernt zu werden. Bei Gegenwart von anderem Zucker (Glucose) ist die Reaction nach Tollens etwas weniger empfindlich, doch noch sehr wohl ausführbar. Der Vorschlag, den Traubenzucker mit Hefe vergähren zu lassen, ist nicht zu empfehlen. Salkowski hat zwar in Pentoseharn, den er mit 2,5 % Zucker versetzt hatte, nach der Gährung noch Pentose nachweisen können, aber nach Külz und Vogel[1]) vergährt in diabetischem Harn die Pentose mit dem Traubenzucker, und das könnte wohl der Grund gewesen sein, weshalb Salkowski in 9 diabetischen Harnen keine Pentose nachweisen konnte.

a. Direct im Harn. Man versetzt nach Tollens[2]) einige cc Harn nach dem Augenmaass mit dem gleichen Vol. Salzsäure von 1,19 Dichte und mit 25—30 mg Phloroglucin, erwärmt über der Gasflamme, bis Rothfärbung eintritt und untersucht dann sofort vor dem Spectralapparat, ob ein Absorptionsstreifen zwischen D und E, im Grün, zum Vorschein kommt. Ist dies nicht der Fall, so setzt man das Erhitzen der Flüssigkeit bis zum beginnenden Kochen fort und bringt das Glas von Zeit zu Zeit vor den Spectralapparat. Der Beobachtung wird bald durch Trübung der Flüssigkeit und allgemeine Verdunkelung des Spectrums ein Ende gemacht. — Statt der Salzsäure von 1,9 Dichte kann man auch die doppelte Menge Salzsäure von 1,12 Dichte nehmen.

In Harnen tritt die Verdunkelung leichter ein als in wässriger Lösung. Diese Störung wird beseitigt durch Entfärben des Harns mit Thierkohle[3]) oder Bleiessig (Salkowski, Ebstein, Cremer, Tollens). Der mit Salzsäure versetzte Harn darf nicht durch Papier filtrirt werden, weil er dabei Pentose aufnehmen kann.

Salkowski[4]) verfährt in der Weise, dass er 5—6 cc rauchender Salzsäure unter Erwärmen mit Phloroglucin sättigt (es soll etwas ungelöst bleiben), die Lösung halbirt, zu der einen Hälfte 0,5 cc Harn setzt, der untersucht werden soll, zur anderen Hälfte 0,5 cc normalen Harn und beide Proben in ein Becherglas mit siedendem Wasser stellt. Ist Pentose vorhanden, so tritt bald Rothfärbung ein, während sich die Vergleichsprobe mit normalem Harn nicht oder nur wenig verändert. — Die roth gewordene Flüssigkeit wird man dann spectroskopisch zu untersuchen haben.

b. Mit dem Niederschlag Wenn die Probe (a) beim Erhitzen trübe geworden ist, so kühlt man sie nach Tollens nach 2—3 Min. schnell ab, bringt den Niederschlag auf ein kleines Filter und wäscht ihn 2—3 mal mit Wasser aus, so dass zuletzt fast farblose Flüssigkeit abläuft. Der Niederschlag nimmt dabei eine in's Violette gehende Färbung an. Man übergiesst dann das Filter mit Alkohol von 93 %, bringt das alkoholische Filtrat nochmals auf den Niederschlag und untersucht dann das violettrothe Filtrat, wenn es zu dunkel ist, nach dem Verdünnen mit Alkohol, mit dem Spectralapparat. Bei Anwesenheit von Pentose ist der Absorptionsstreifen im Grün zu sehen. War Galactose vorhanden, oder ein Zucker, welcher bei dieser Behandlungsweise Galactose liefert (Milchzucker, Raffinose), so ist der Niederschlag auch violett und die alkoholische Lösung gleichfalls roth, aber der Absorptionsstreifen ist nicht zu sehen.

2. Das Orcin, welches mit Pentose gleichfalls eine Farbenreaction giebt, hat für die Untersuchung des Harns noch keine Verwendung gefunden.

[1]) Ebstein, Virchow's Archiv **129**. 405. — Salkowski, Berliner klin. Wochenschr. 1895. 366. — Külz u. Vogel, Ztschr. f. Biol. **32**. 188.

[2]) B. Tollens, Berichte **29**. 1204.

[3]) Gute Thierkohle liefert W. Flemming, Chemische Fabrik, Kalk bei Köln.

[4]) Salkowski, Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1892. 337; Berliner klin. Wochenschr. a. a. O.

3. Ueber allen Zweifel erhoben wird der Nachweis der Pentose durch die Darstellung des Osazons.

a. Salkowski[1]) empfiehlt folgendes Verfahren. Es werden 200—500 cc Harn in einem Becherglas auf 100 cc mit 2,5 g in überschüssiger Essigsäure gelöstem Phenylhydrazin (oder der Lösung von 3,5 g salzsaurem Phenylhydrazin und der 1,5 fachen Menge essigsaurem Natron) versetzt, die Flüssigkeit zum beginnenden Sieden erhitzt und das Glas noch 1—1¼ St. in siedendem Wasser stehen gelassen. Man lässt dann erkalten oder kühlt ab. Ist Pentose in einigermaassen erheblicher Menge vorhanden, so erfüllt sich die Flüssigkeit mit den gelben Osazonkrystallen; diese werden abfiltrirt, auf Fliesspapier vom grössten Theil der anhaftenden Flüssigkeit befreit und aus heissem Wasser, oder besser, wegen ihrer Schwerlöslichkeit, aus heissem stark verdünnten Alkohol so oft umkrystallisirt, bis zwei nach einander erhaltene Präparate denselben Schmelzpunkt aufweisen.

b. In ähnlicher Weise verfährt man nach Külz und Vogel[2]) bei der Darstellung des Osazons aus diabetischem Harn. Da man den Traubenzucker nicht durch Gährung wegschaffen darf, weil man Gefahr läuft, dabei auch die Pentose zu verlieren, so wird auch die Glucose als Osazon gefällt und dann das eine Osazon von dem anderen getrennt. Der Zusatz von Phenylhydrazin ist nach der Menge des Traubenzuckers zu bemessen.

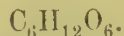
Külz und Vogel nahmen 1,6—3,2 Ltr. Harn in Arbeit. Auf 100 g Zucker wurden 200 g Phenylhydrazin und 100 g Eisessig zugesetzt, der Harn 1½ St. auf dem Wasserbad erhitzt, nach dem Erkalten der Niederschlag abfiltrirt und das Filtrat nochmals 1½ St. auf dem Wasserbad stehen gelassen. Die beiden Osazonniederschläge wurden gut mit kaltem Wasser gewaschen. Für die Gewinnung des Pentosazons empfiehlt es sich nicht, den Niederschlag mit Wasser auszukochen, weil dabei auch viel Glucosazon in Lösung geht und das Pentosazon nicht rein erhalten wird; es ist dazu nur eine Extraction mit 60° warmem Wasser zulässig. Külz und Vogel verwendeten auf das Osazon aus 100 g Zucker 1 Ltr. Wasser und wiederholten die 12 stündige Digestion 15 mal. Die Auszüge wurden durch einen Heisswassertrichter filtrirt und erkalten gelassen. Mit den entstandenen Niederschlägen ist dann, unter Verwendung von etwas weniger Wasser, das Reinigungsverfahren so oft zu wiederholen, bis das Osazon constanten Schmelzpunkt besitzt.

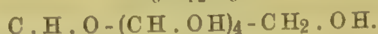
Der Schmelzpunkt wird mit der vorher getrockneten Substanz bestimmt. Er liegt bei 159—160°. Das Lactosazon schmilzt bei 200°.

4. Um die in dem Osazon enthaltene Pentose näher zu bestimmen, wird die alkoholische Lösung desselben polarimetrisch untersucht. Das Xylosazon zeigt eine starke constante Linksdrehung, während die alkoholische Lösung des Arabinosazons gleich nach ihrer Herstellung rechts dreht, nach einigen Stunden aber optisch inactiv ist.

II. Hexosen.

1. Traubenzucker.


$C_6H_{12}O_6$.


$C.H.O-(CH.OH)_4-CH_2.OH$.

Syn. d-Glucose, Glykose, Dextrose, Harnzucker, Stärkezucker, Krümelzucker.

Nach den vorliegenden sehr gründlichen Untersuchungen erscheint es unzweifelhaft, dass der normale Harn bei gewöhnlicher Lebensweise Spuren Zucker enthält. Gestützt wird diese Ansicht durch die physio-

1) Salkowski, Berliner klin. Wochenschr. a. a. O.

2) Külz u. Vogel, a. a. O. 190.

logische Thatsache, dass nach reichlichem Genuss von Traubenzucker oder derartigen Substanzen, welche durch die Verdauung leicht in solchen verwandelt werden, im Harn Gesunder vorübergehend Zucker nachweisbar ist. (Alimentäre Glykosurie.)

Unter pathologischen Verhältnissen kommt entweder nur zeitweilig (Glykosurie) oder dauernd (Diabetes mellitus) Traubenzucker im Harn vor. Glykosurie tritt auf nach gewissen operativen Eingriffen, namentlich nach der Verletzung gewisser Nerven (Piqûre von Claude Bernard etc.) bei der Ischias, nach Vergiftung mit Kohlenoxyd, Curare, Amylnitrit etc., vor Allem mit Phloridzin (v. Mering[1]), ferner in der Cholera, nach Durchspülung des Blutgefässsystems mit physiologischer Kochsalzlösung, nach Injection von Zuckerlösung in das Blut etc. Ein bis zum Tode des Versuchsthieres anhaltender Diabetes kommt zu Stande durch Totalexstirpation des Pankreas (v. Mering u. Minkowski[2]).

Bei der Zuckerharnruhr ist der Traubenzucker der typische Harnzucker; Mengen von 300 g und darüber in der Tagesmenge gehören nicht zu den Seltenheiten. In schweren Fällen findet er sich in allen zu jeder Tageszeit gelassenen Harnportionen, in den leichten dagegen enthält der Harn hauptsächlich nur nach den grösseren Mahlzeiten oder nach dem Genuss von Kohlenhydraten Zucker.

Die gewöhnlichen Reductionsproben genügen nicht für den Nachweis von Zucker im physiologischen Harn; die sehr empfindlichen Furfurolreactionen sind wieder nicht eindeutig. Der Beweis für die Gegenwart von Zucker im normalen Harn lässt sich nur durch Darstellung desselben aus dem Harn führen.

In dieser Hinsicht ist es zuerst Brücke gelungen, durch Bleiessig und Ammoniak, weniger gut durch Bleiessig allein, eine Substanz zu fällen, welche Metalloxyde in alkalischer Lösung reducirt und mit Hefe gährt. Bence Jones fand die fragliche Substanz rechtsdrehend. Abeles hat diese Versuche in grossem Maassstabe wiederholt und die Kenntniss der Eigenschaften des fällbaren Körpers erheblich erweitert. Die Fällung nahm er zum Theil mit Chlorbleilösung (und Ammoniak) statt mit Bleiessig vor. Es wurde von ihm dargethan, dass der isolirte Körper bei der Gährung neben Kohlensäure auch Alkohol liefert. Einmal erhielt Abeles aus 25 *l* Harn eine Lösung, welche so stark wie eine 0,6⁰/₀ige Zuckerlösung drehte und bei der Gährung ausser Alkohol 0.103 g Kohlensäure (= 0,2 g Zucker) lieferte. Ein ander Mal wurde in der Lösung des Endprodukts durch Polarisation 0.5 ⁰/₀, durch Titriren 0.45 ⁰/₀ Zucker bestimmt. Endlich wurde aus dem Endprodukt von 300 *l* Harn auch Zuckerkali erhalten, in welchem nach der Polarisation ungefähr 3 g Zucker enthalten waren. Die völlige Reindarstellung des Zuckers misslang. Bei der Beurtheilung der quantitativen Ergebnisse ist zu berücksichtigen, dass die Wiedergewinnung von Traubenzucker nach diesen Methoden mit grossen Verlusten verbunden ist. Auch scheint nur frischer Harn den fraglichen Körper zu liefern. Diese Erfahrungen hat Schilder dahin ergänzt, dass die durch Bleisalz und Ammoniak fällbare Substanz auch mit Phenylhydrazin eine Verbindung eingeht.

[1]) J. v. Mering, Verhandl. des V. Congresses f. innere Med. 1886. 185; des VI. Congr. 1887. 349; Ztschr. f. klin. Med. **14**. 405. 1888 u. **16**. 431. 1889.

[2]) J. v. Mering u. O. Minkowski, Centralbl. f. klin. Med. **10**. 393. 1889; Archiv f. exper. Pathol. **26**. 371. 1890.

Er erhielt aus jedem Harn (von 13 jungen Männern und einem Kind) bei Verarbeitung von nur 200—500 cc Harn neben amorphen Schollen wohl ausgebildete Krystalle vom Aussehen des Glucosazons. Den Schmelzpunkt der Krystalle hat Schilder nicht bestimmt, Moritz aber zu 204—205°, gleich dem des Phenylglucosazons, gefunden. Geyer[1]) dagegen konnte die Ergebnisse von Abeles nur theilweise bestätigen.

Weitere stichhaltige Beweise für die Gegenwart kleiner Mengen Traubenzucker im normalen Harn sind beigebracht worden durch die Untersuchung der aus Harn gewonnenen Benzoësäureester (S. 64).

Aus normalem Harn liessen sich ferner nach den Untersuchungen von Moritz und von Roos immer, nach Geyer, Luther, Salkowski sowie (auch bei Kindern) nach Binet wenigstens sehr oft bei der Behandlung desselben mit Phenylhydrazin direkt Krystalle erhalten, welche im Aussehen solchen des Phenylglucosazons völlig gleich waren, während Hirschl[2]) die Darstellung der Krystalle in sonst als zuckerfrei erkanntem Harn versagte. Für sich allein wäre der positive Befund nicht beweisend für die Anwesenheit von Zucker im normalen Harn, die Deutung der Krystalle als Verbindungen von Traubenzucker kann nur durch den vorwurfsfreien Nachweis von Zucker nach anderen Methoden gestützt werden.

Die Glykuronsäure giebt mit Phenylhydrazin zwar Krystalle, welche sich nach Geyer sowie Hirschl weder in der Form noch in den Löslichkeitsverhältnissen vom Phenylglucosazon unterscheiden; aber gegen den Schluss, dass die aus Harn darstellbare Phenylhydrazinverbindung Glykuronsäure enthalte, ist einzuwenden, dass das Vorkommen von freier Glykuronsäure im Harn nicht erwiesen und dass die gepaarten Glykuronsäuren wahrscheinlich alle, wie die Euxanthinsäure, kein Osazon bilden. Gegen die Deutung der Krystalle als Phenylglucosazon spricht aber der Umstand, dass der Schmelzpunkt der Krystalle nach Salkowski[3]) mit 175—180° dem des Pentosazons (159—160°) viel näher liegt, als dem des Glucosazons (204—205°).

Gleichfalls einen nur bedingten Werth als Beweis für das Vorkommen von Zucker im normalen Harn besitzen die Erfahrungen, welche Worm-Müller über das Verhalten des normalen Harns gegen seine verbesserte Reductionsmethode gemacht hat, nach welchen bei der Gährung von normalem Harn mit Bierhefe häufig eine 0,01—0,02, selbst 0,05 % Zucker entsprechende Menge reducirender Substanz verschwindet, ohne dass die reducirende Substanz bei der Gährung immer ganz verbraucht wird. Quinquaud bestimmte das bei der Reduction mit Fehling'scher Lösung gebildete Kupferoxydul durch Fällen desselben mit Rhodanammon, und fand, in guter Uebereinstimmung mit Worm-Müller, dass durch Gährung in der Tagesmenge Harn eine 0,38—0,62 g Zucker entsprechende Menge reducirender Substanz verschwindet, während diese Zuckermenge bei der Bestimmung nach dem von Gréhant und Quinquaud ausgearbeiteten Gährungsverfahren 0,20—0,48 g betrug. Bei der Untersuchung von 84 normalen Harnen mittelst der Probe von Worm-Müller erhielt Luther 19 mal positive Resultate; nach 24 st. Gähren gaben diese Harne die Probe nicht mehr. Andere Harne enthielten nach der Furfurolprobe viel Kohlenhydrate, nämlich mindestens 0,3 %.

---

1) Brücke, Wiener med. Wochenschr. 19. 20. 1858; Sitzungsber. d. math. naturw. Cl. der k. Akad. d. Wissensch. zu Wien **39**. 15. — H. Bence Jones, Chem. Soc. Quart. Journ. **14**. 22; Chem. Centralbl. 1862. 633. — Abeles, Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1879. 33. 209. 385. — C. Schilder, Wiener med. Blätter 1886. 384. — F. Moritz, Archiv f. klin. Med. **46**. 257. 1890. — J. Geyer, Wiener med. Presse **43**. 1889. 1686.

2) F. Moritz, Münchener med. Wochenschr. 16. 1889. 281. u. a. a. O. 255. — E. Roos, Zeitschr. f. physiol. Ch. **15**. 528. 1891. — Geyer, a. a. O. — E. Luther, Ueber das Vorkommen von Kohlenhydraten im normalen Harn. Diss. 1890. 22. — Salkowski, Ztschr. f. physiol. Ch. **17**, 241. 1892. — P. Binet, Revue méd. de la Suisse rom. **12**. 69; Jahresb. f. Thierch. 1892. 506. — J. A. Hirschl, Ztschr. f. physiol. Ch. **14**. 377. 1890.

3) Salkowski, Ztschr. f. physiol. Ch. **17**. 241. 1892.

selten weniger, wovon 40 % gährungsfähig waren. Weiter ermittelte Luther bei der Untersuchung von 43 normalen Harnen mittels der Furfurolprobe, dass durch Gährung aus ihnen im Mittel 0,095 % (0—0,36 %) Kohlenhydrat (als Traubenzucker betrachtet) verschwand. Von den Harnen, welche 0,1 % und darüber an Kohlenhydrat verloren, gaben die meisten die Worm-Müller'sche Reaction (11 von den 43).

Ebenso hat Nylander[1]) nach seinem Verfahren an 14 von 100 Harnen Gesunder Reduction wahrgenommen, und von diesen 14 gaben 12 auch die Reaction nach Worm-Müller. Wiewohl die Nylander'sche Probe für den positiven Nachweis von Zucker im Harn viel von ihrem Werth eingebüsst hat, ist doch die grosse Uebereinstimmung ihrer Resultate mit denen nach Worm-Müller von Wichtigkeit.

Die reducirende Wirkung, welche alkalisch gemachter Harn auf Safranin ausübt, tritt nach Crismer[2]) nicht mehr ein, wenn der Harn mit Hefe behandelt worden ist; nach der Stärke der Reaction schätzt Crismer den Gehalt des normalen Harns an Zucker auf mehrere 0,01 %.

Das Zustandekommen der alimentären Glykosurie ist zuerst von Worm-Müller (beim gesunden Menschen) und von Hofmeister (beim Hund) zum Gegenstand einer eingehenden Untersuchung gemacht worden, aus denen sich ergab, dass nach Zufuhr verschiedener Zuckerarten in grossen Mengen diese im Harn auftreten können. In Uebereinstimmung hiermit hat Kratschmer nach dem Genuss grösserer Mengen von Bier ab und zu (durch Gährung, Polarisation und Reduction) Zucker im Harn nachgewiesen, insbesondere in den nahezu farblosen Harnen von geringer Dichte (1005—1008). Doch fand sich der Zucker nicht bei allen Personen. Aehnliche Erfahrungen hat Moritz[3]) nach dem Genuss von Champagner gemacht.

Aus den Untersuchungen von Worm-Müller, Moritz, Cremer, Linossier und Roque, sowie Miura[4]) ergiebt sich, dass bei Gesunden nach dem Genuss von sehr viel gequollenem Stärkemehl (bis 600 g nach Moritz) kein Zucker oder nur in zweifelhaften Spuren im Harn nachweisbar ist. Traubenzucker, Mannose, Levulose, Sorbose, Maltose, Rohrzucker, Milchzucker (auch nach Moritz) erscheinen als solche im Harn, aber in der Regel erst, wenn mehr als 100 g des Zuckers auf einmal genossen werden. Die ausgeschiedene Zuckermenge ist gering, sie beträgt selten mehr als 1 g. Die Glykosurie beginnt schon in der 1. Stunde nach der Zufuhr, erreicht in der 2.—4. Stunde ihr Maximum und spätestens in der 8.—10. Stunde ihr Ende.

Die Leichtigkeit, mit welcher die Glykosurie eintritt, ist von individuellen Verhältnissen abhängig; es giebt Personen, welche schon nach kleinen Mengen

---

1) Worm-Müller, Pflüger's Archiv **27**. 110. 1882; **33**. 212. — Ch. M. Quinquaud, C. r. de la Soc. biol. **14**. 349; Jahresb. f. Thierch. 1890. 184. — Gréhant u. Quinquaud, C. r. **106**. 1249. — E. Luther, Vork. von Zucker im normalen Harn. Diss. 1890. 39. u. 42. — Nylander, Ztschr. f. physiol. Ch. **8**. 181. 1883.

2) L. Crismer, Ann. Soc. méd. chir. de Liége, Oct. 1888; Chem. Centralbl. 1888. 1510.

3) Worm-Müller, Pflüger's Archiv **27**. 124; **34**. 576. — F. Hofmeister, Archiv f. exper. Pathol. **25**. 240. — Kratschmer, Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1886. 257. — F. Moritz, Archiv f. klin. Med. **46**. 269. 1890.

4) Worm-Müller, a. a. O. — Moritz, Verhandl. des X. Congr. f. innere Med. 492. 1891 und besondere Mittheilung. — M. Cremer, Ztschr. f. Biol. **29**. 484. 1893. — G. Linossier u. G. Roque, Arch. de méd. expér. **7**. 228; Centralbl. f. d. med. Wissensch. 39. 1895. 684. — K. Miura, Ztschr. f. Biol. **32**. 281. 1895. Die ältere Literatur über die physiologische alimentäre Glykosurie findet sich zusammengestellt bei Worm-Müller, a. a. O. **34**. 576 und bei Moritz, Archiv a. a. O. 267.

(50 g) Zucker im Harn ausscheiden, andere, bei welchen die Glykosurie nach grossen Mengen (300 g) noch ausbleibt. Einen direkten Beweis hierfür erbringt der von Hofmeister[1]) hervorgerufene Hungerdiabetes. Wenn Hunden die Nahrung ganz oder nahezu ganz entzogen wird, so scheiden sie nach Darreichung geringer Mengen (20—30 g) Stärkemehl in verkleistertem Zustand erhebliche Mengen Zucker (bis 4,7 g oder ungefähr 30 % der Stärke) aus, die einen schon nach 3—4 tägigem Hunger; andere, namentlich junge noch wachsende Thiere in 2—3 Wochen. Auch setzt der Hunger die Assimilationsgrenze für Traubenzucker beträchtlich herab. — Auch bei Schwangeren tritt leicht alimentäre Glykosurie ein; Lanz verabreichte 30 Schwangeren je 100 g Traubenzucker und konnte danach bei 19 Traubenzucker im Harn nachweisen. v. Noorden und Zülzer fanden, dass bei Wöchnerinen (auch nach Frühgeburt und Abortus) schon nach kleineren Gaben Milchzucker als bei Frauen ausserhalb des Wochenbettes Milchzucker im Harn auftritt und dass auch nach Darreichung von (150 g) Traubenzucker der Harn Zucker enthält, nach v. Noorden und Zülzer Milchzucker.

Unter pathologischen Verhältnissen tritt alimentäre Glykosurie leicht ein nach Moritz, Kraus und Ludwig, Colasanti bei Lebercirrhose (und schlechter Ernährung Colasanti), nach Bollinger, Huber sowie nach v. Jaksch bei Phosphorvergiftung mit hochgradiger Verfettung der Leber und nach v. Noorden bei Fettleber auch aus anderen Ursachen, bei diffusen Erkrankungen des Gehirns nach Bloch, Strasser, v. Jaksch, bei Morbus Basedowii nach Chvostek sowie nach Kraus und Ludwig. Kraus und Ludwig beobachteten Glykosurie in einem Fall von Pankreascyste (auch nach Darreichung von Reis), und in einem Fall von Diabetes insipidus. Bei Fieber bildet nach Pohl[2]) die elimentäre Glykosurie die Regel.

Die Beobachtungen über spontane (pathologische) Glykosurie hat v. Jaksch[3]) zusammengestellt.

Glykosurie kann hervorgerufen werden durch verschiedene Eingriffe in den Organismus; sie entsteht nach Araki bei Entziehung des Sauerstoffs, sowie durch starke Abkühlung des Körpers, aber auch durch Gifte, welche die Aufnahme des Sauerstoffes beeinträchtigen. Den in dieser Hinsicht schon bekannten Stoffen: Kohlenoxyd, Curare (dieses nach Zuntz nur bei unzureichender Ventilation der Lungen), Amylnitrit, Morphin hat Araki noch hinzugefügt Strychnin, Cocain, Veratrin, Zillessen die Blausäure. Nach Araki tritt bei diesen Giften die Zuckerausscheidung nur beim gefütterten Thier ein, nach Skraub bei Kohlenoxydvergiftung nur bei Thieren, welche Eiweiss zur Verfügung haben. An diese Gifte dürfte sich anschliessen nach Manchot das Chloralamid und das Chloralhydrat, nach Bondi das Nitrobenzol. Quecksilberchlorid bewirkt nach Schröder und nach Graf Glykosurie, nach Kissel auf Kosten des Leberglykogens, wie bei anderen Eingriffen, z. B. der Piqûre, auch. Von anderen Substanzen, welche, wie nach G. Hoppe-Seyler die Orthonitrophenylpropiolsäure beim Hunde, nach Külz die Trichloressigsäure, nach Krohl das oxalsaure Natron, das oxalursaure Ammon und das Oxamid Glykosurie erzeugen, ist die Wirkungsweise nicht bekannt. Von der Caffeinsulfosäure, dem Caffein und Theobromin, welche nach Jacobj beim Kaninchen unter zuckerreicher Nahrung mit gesteigerter Diurese Glykosurie hervorrufen, nimmt Jacobj an, dass sie das

1) F. Hofmeister, Arch. f. exper. Pathol. **26**. 355. 1890. — F. Lanz, Wiener med. Presse 49. 1895. 1857. — v. Noorden, Du Bois' Archiv 1893. 385.

2) F. Moritz, Münchner med. Wochenschr. 1. 2. 1891. — F. Kraus u. H. Ludwig, Wiener klin. Wochenschr. 46 u. 48. 1891. — G. Colasanti, Jahresb. f. Thierch. 1892. 511. — Bollinger, Arch. f. klin. Med. **12**. 23. — Huber, Ztschr. f. klin. Med. **14**. 490. — v. Jaksch, Prager med. Wochenschr. 1892. 367. — v. Noorden, Verhandl. des XIII. Congresses f. innere Med. 48. 1896. — G. Bloch, Ztschr. f. klin. Med. **22**. 525. 1893. — A. Strasser, Wiener med. Presse 28. 29. 1894. — F. Chvostek, Wiener klin. Wochenschr. 18. 1892. — Pohl, Fortschritte der Med. 13. 1896.

3) v. Jaksch, Klinische Diagnostik, 4. Aufl. 371. 1896.

Secretionsvermögen der Nieren für Zucker erhöhen (Nierendiabetes). In allen diesen Fällen ist die Zuckerausscheidung nur gering[1]).

Bei der Glykosurie allein, welche durch Phloridzin $C_{21}H_{24}O_{10}$ hervorgebracht wird, gelangt der Zucker in solchen Mengen zur Ausscheidung, wie beim Diabetes. Das Phloridzin zerfällt beim Kochen mit Säure in Phloretin $C_{15}H_{14}O_5$ und Traubenzucker, das Phloretin beim Kochen mit Kalilauge in Phloretinsäure $C_9H_{10}O_3$ und Phloroglucin $C_6H_6O_3$. Von diesen Zersetzungsprodukten bringt nach v. Mering, nach Külz und Wright sowie nach Moritz und Prausnitz nur das Phloretin dieselbe Wirkung hervor, wie das Phloridzin, aber nach Sée und Gley in geringerem Grade. Die Glykosurie entsteht nicht blos beim Säugethier, sondern nach Cremer und Ritter auch beim Huhn und beim Frosch. Ausser durch ihren kurzen Bestand unterscheidet sich diese Glykosurie vom Diabetes nach v. Mering auch dadurch, dass das Blut nicht reicher, sondern ärmer an Zucker ist. Darnach scheint es, als ob diese Glykosurie durch eine gesteigerte Secretion von Zucker zu Stande käme. In Uebereinstimmung damit hat Zuntz[2]) dargethan, dass nach Injection von Phloridzin in eine Nierenarterie zunächst nur die betroffene Niere 2–5 mal so viel Harn ausscheidet als die andere Niere, und dass nur dieser Harn (2—4,6 %) Zucker enthält. Erst nach einigen Minuten beginnt die Glykosurie auch an der anderen Niere.

Der Pankreasdiabetes ist der typischen Zuckerharnruhr auch darin gleich, dass das Blut reicher an Zucker ist als normal. Im Hunger oder bei Fütterung mit Fleisch scheidet der diabetisch gemachte Hund nach Minkowski[3]) auf 1 Theil Stickstoff (aus 6 Theilen Eiweis) 2,7—2,8 Theile Zucker aus. Er kann nicht blos beim Hund hervorgebracht werden, sondern nach Minkowski auch bei der Katze und beim Schwein, nach Hédon beim Kaninchen, nach Aldehoff bei der Schildkröte und beim Frosch. Beim Kaninchen tritt die Zuckerausscheidung erst 20—30 Tage nach der Ausrottung des Pankreas ein, wird durch Ausschluss der Kohlenhydrate sehr beschränkt und durch Hunger ganz aufgehoben; nach einiger Zeit verschwindet der Diabetes ganz. — Eine unvollständige Entfernung des Pankreas hat entweder keinen Diabetes zur Folge, oder er tritt nur schwach auf. Eine Verpflanzung des Pankreas an eine andere Körperstelle führt, wiewohl es vom Darm getrennt ist, nicht zur Zuckerausscheidung.

Neuere, von Haycraft, Bohland, Borchardt u. Finkelstein, Palma, White, Grube[4]), angestellte Untersuchungen über die Ausnützung der Levulose im Organismus des Diabetikers haben ergeben, dass je nach Menge des verabreichten Zuckers und nach der Schwere des Falls die Levulose entweder vollständig verschwindet, oder dass die Menge des Traubenzuckers gesteigert erscheint,

---

1) T. Araki, Ztschr. f. physiol. Ch. **15**. 335. 546. 1891; **16**. 453. 1892; **19**. 422. 1894. — W. Skraub, Arch. f. exper. Pathol. **38**. 139. — H. Zillessen, daselbst **15**. 387. — C. Manchot, Virchow's Archiv **136**. 368. 1894. — M. Bondi, Prager med. Wochenschr. 11. 12. 1894. — H. Schröder, Diss. Würzburg; Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1893. 723. — E. Graf, Diss. Würzburg; Virchow-Hirsch's Jahresber. 1895. **1**. 344. — O. Kissel, Diss. Würzburg; Virchow-Hirsch's Jahresber. 1895. **1**. 143. — G. Hoppe-Seyler, Ztschr. f. physiol. Ch. **7**. 412. 1883. — E. Külz, Pflüger's Archiv **28**. 506; Ber. d. chem. Gesellsch. **15**. 1538. — P. Krohl, Arbeiten aus dem pharmakol. Institut zu Dorpat **7**. 130; Jahresber. f. Thierch. 1891. 442. — C. Jacobj, Archiv f. exper. Pathol. **35**. 213. 1895.

2) F. Moritz und W. Prausnitz, Ztschr. f. Biologie **27**. 84. 1890. — E. Külz u. Wright, Ztschr. f. Biol. **27**. 181. 1890. — G. Sée u. E. Gley, Comptes rendus **108**. 84. 1889. — M. Cremer u. A. Ritter, Ztschr. f. Biologie **28**. 459. — Cremer, daselbst **29**. 175. — N. Zuntz, Du Bois' Archiv 1895. 570.

3) O. Minkowski, Berliner klin. Wochenschr. 5. 1892. — E. Hédon, Comptes rendus **116**. 649; **117**. 238. — G. Aldehoff, Ztschr. f. Biologie **28**. 293.

4) J. B. Haycraft, Ztschr. f. physiol. Ch. **19**. 137. 1894. — K. Bohland, Therap. Monatshefte **8**. 377. — M. Borchardt und H. Finkelstein, Deutsche med. Wochenschrift **19**. 989. 1894. — P. Palma, Prager Ztschr. f. Heilk. **15**. 265. 1894. — W. Hale White, Ztschr. f. klin. Med. **26**. 332. 1894. — K. Grube, daselbst **26**. 340.

manchmal unter gleichzeitiger Ausscheidung von etwas unveränderter Levulose. Diese Vertretung fremder Zuckerarten durch Traubenzucker im Harn der Diabetiker hat Palma auch nachgewiesen für die Maltose, Bourquelot und Troisier, F. Voit, Borchardt und Finkelstein für den Milchzucker, F. Voit ferner für die Galaktose, und ähnliche Erfahrungen sind bei Pankreasdiabetes gemacht worden von Minkowski, Hédon, Sandmeyer[1]). Diese Erscheinung erklärt sich entweder daraus, dass der fremdartige Zucker an Stelle von Traubenzucker verbrannt wird, oder dass er, wie Einige für die Bildung von Glykogen aus anderem Zucker als Traubenzucker annehmen, in Glucose verwandelt wird. Solche Umwandlungen sind ausserhalb des Organismus ausgeführt worden (S. 75).

B. *Eigenschaften.* 1. Vom Traubenzucker bestehen nach Tanret[2]), wie von anderen Zuckerarten (S. 74), drei Modificationen, die sich durch ihre specifische Drehung und ihre Löslichkeit unterscheiden.

In der Modification α krystallisirt die Glucose immer in der Kälte aus übersättigten Lösungen oder beim spontanen Verdunsten. Sie enthält dann 1 Mol. H_2O, welches schon unter 100° entweicht, bildet meist weisse Warzen oder blumenkohlähnliche Massen (Krümelzucker), aus Aethylalkohol oder Methylalkohol krystallisirt sie in wasserfreien durchsichtigen Prismen, die sich zu Büscheln oder harten klingenden Krusten vereinigen und an feuchter Luft trüb werden und zerfliessen. Der wasserfreie Zucker schmilzt bei 144—146° und erstarrt amorph. Der fest gewordene Zucker schmilzt nach Tanret[3]) wieder bei 75° und hält man die Temperatur auf 105°, so erscheinen nach 4 Stunden Krystalle und nach 15 Stunden ist fast alles krystallisirt. In dieser Hinsicht verhält sich der Zucker aber nicht anders wie andere nach dem Schmelzen amorph erstarrte Substanzen.

In verdünnter wässriger Lösung verwandelt sich die Modification α in die von β innerhalb einiger Minuten beim Kochen, in 7—8 Stunden bei 15°, in länger als 30 Stunden bei 0°, aber sofort auf Zusatz von 1 % Kali. In concentrirter Lösung ist jedoch diese Umwandlung selbst bei viertelstündigem Kochen unvollständig, es bleibt immer ein Rest der Modification α unverändert (in einer Lösung mit 50 g Gesammtzucker in 100 z. B. 2,1 g), aber der Zusatz von Kali zu der im chemischen Gleichgewicht befindlichen concentrirten Lösung macht die Umwandlung sogleich vollständig.

Die Umwandlung der Modification α in die Modification β vollzieht sich auch in alkoholischer Lösung, aber langsamer und unvollständiger als in wässeriger.

Die Modification β ist diejenige, in welcher sich der Zucker hauptsächlich in Lösung befindet. Man erhält sie am Besten, wenn man eine concentrirte wässrige

---

1) Bourquelot und Troisier, Comptes rendus de la Soc. biol. **41**. 142. 1889. — Borchardt und Finkelstein, a. a. O. 41. 1893. — F. Voit, Ztschr. f. Biologie **28**. 353. **29**. 147. — O. Minkowski, Archiv f. exper. Pathol. **31**. 152. 1893. — E. Hédon, Arch. de physiol. **25**. 154. 1894. — W. Sandmeyer, Ztschr. f. Biol. **31**. 12. 1894.

2) C. Tanret, Comptes rendus **120**. 1060; Bull. de la Soc. chim. [3] **13**. 728. 1895; **15**. 358. 1896.

3) Tanret, Comptes rendus **120**. 631. 1895.

Lösung der Modification α auf dem Wasserbade bei 92° unter fortwährendem Rühren eindampft, bis sie zu krystallisiren beginnt und sie sofort bei derselben Temperatur trocknet; wenn die Krystallisation beginnt, enthält die Masse noch 10% Wasser. In höherer Temperatur entsteht etwas von γ, in niedrerer bleibt etwas von α. Zur Reinigung löst man das Produkt in dem gleichen Gewicht kaltem Wasser und mischt der Lösung unter fortwährendem Rühren, langsam, so dass sich kein Syrup abscheidet, viel auf 0° abgekühlten absoluten Alkohol hinzu, worauf die Modification β auskrystallisirt, mit etwas α, wenn die Abscheidung langsam erfolgt. Durch Fällen einer noch warmen concentrirten Zuckerlösung mit Alkohol erhält man β gleichfalls.

Die Modification γ stellt man am Vortheilhaftesten dar durch Eintrocknen einer sehr concentrirten Zuckerlösung bei 110°. Man löst in dem gleichen Gewicht Wasser und setzt unter anhaltendem Rühren so viel absoluten Alkohol zu, dass die Mischung 90—95% Alkohol enthält.

2. Der gewöhnliche Zucker löst sich sehr leicht in Wasser, schwer in kaltem Aethylalkohol, leichter in heissem, langsam, aber in grosser Menge, in Methylalkohol, nicht in Aether. Thierkohle entzieht ihn, wie andere Zucker, nach Bence Jones sowie Seegen[1]), seiner Lösung in grösserer Menge.

Wasser löst bei 15° 0,82 Thle Anhydrid; 90proc. Alkohol löst bei 17,5° ungefähr 2 Thle Anhydrid, 70proc. 8 Thle, 60proc. 16, 40proc. 32 Thle. In der Siedehitze löst 90proc. Alkohol 22 Thle, 60proc. 136 Thle Anhydrid. Aether fällt Traubenzucker aus seiner alkoholischen Lösung.

Von der Modification β, derjenigen, welche vorwiegend in Zuckerlösungen enthalten ist, löst sich nach Tanret 1 Thl krystallwasserhaltiger Zucker bei 15° in 1,09 Thln Wasser, 1 Thl wasserfreier Zucker in 1,32 Thln Wasser. Ferner löst sich in der Kälte 1 Thl in 4,5 Thln Alkohol von 60%, 24 Thln Alkohol von 90%, 62 Thln Alkohol von 95% und 140 Thln von 99,4%; in der Siedehitze 1 Thl in 3,5 Thln Alkohol von 90%, 7 Thln Alkohol von 95% und 30 Thln Alkohol von 99,4%. — Die Modification α löst sich leichter in Wasser als β; von der Modification γ löst sich 1 Thl schon in 0,75 Thln Wasser.

3. Seine Lösungen drehen die Ebene des polarisirten Lichts nach rechts (Dextrose); für das Anhydrid in wässriger Lösung beträgt die spec. Drehung $[\alpha]_D = 52{,}5$.

Nach den letzten Bestimmungen von Tollens[2]) genauer, für das Anhydrid

$$[\alpha]_D = 52{,}50 + 0{,}018796\,p + 0{,}00051683\,p^2,$$

für das Hydrat

$$[\alpha]_D = 47{,}73 + 0{,}015534\,p + 0{,}0003883\,p^2,$$

wo p den Procentgehalt der Lösung an Zucker bedeutet. Für eine 3proc. Anhydridlösung wäre demnach $[\alpha]_D = 52{,}56$, für eine 5proc. 52,60. Im Grunde besitzt das Hydrat keine andere spec. Drehung als das Anhydrid; der Unterschied der Zahlen rührt nur daher, dass das Mol. des Hydrats 1,1 mal so gross ist als das des Anhydrids. Die Temperatur hat nur einen geringen Einfluss auf die Drehung.

Der in Lösung befindliche Zucker ist die Modification β, ihr kommt nach Tanret die spec. Drehung 52,5 zu, während für die Modification α $[\alpha]_D =$ mindestens 106°, für die Modification γ $[\alpha]_D =$ höchstens 22,5°. Eine in der Kälte frisch bereitete Traubenzuckerlösung, d. i. die Modification α, hat $[\alpha]_D = 106°$, sie zeigt Birotation (Multirotation), eine Erscheinung, welche zuerst von Dubrunfaut

1) Bence Jones, Lancet. **1.** 3; Jan. 1861; Schmidt's Jahrb. **112.** 85. — Seegen, Pflüger's Archiv **5.** 375. 1872.

2) B. Tollens, Berichte d. chem. Gesellsch. **17.** 2234. 1884.

wahrgenommen wurde. Die Drehung beginnt sofort zu sinken und wird bei 15° in 7—8 St., beim Kochen in einigen Minuten constant, ohne jedoch, ausser in verdünnten Lösungen, die spec. Drehung von 52,5° zu erreichen. Es ist nicht die ganze in Lösung gebrachte Modification α in die Modification β übergegangen, sondern nur der grössere Theil und zwischen den beiden Modificationen ist ein Gleichgewicht eingetreten, was in der erscheinenden Verschiedenheit der spec. Drehung bei verschiedenen Concentrationen seinen Ausdruck findet. Eine Dextroselösung erreicht nach dem Verdünnen nur allmählich die berechnete geringere Drehung (Gubbe, Tanret), weil sich das Gleichgewicht zwischen den beiden Glucosearten für die neue Concentration nicht sofort herstellt; durch einen Zusatz von 1% Kali wird es aber nach Tanret sofort erreicht; eine frisch bereitete Lösung von Dextrose in 0.1 proc. Ammoniak zeigt nach Schulze und Tollens $[\alpha]_D = 48.3^0$ (vergl. S. 75). Säuren sind nach Jungfleisch und Grimbert ohne Einfluss auf die spec. Drehung der Dextrose, beschleunigen aber nach Erdmann sowie nach Levy und nach Trey den Eintritt der constanten Drehung. Eine alkoholische Dextroselösung erreicht die constante Drehung langsamer als eine wässrige und die spec. Drehung ist grösser (Tanret, Trey[1]).

4. Verbindungen.

a. Mit Chlornatrium. Aus diabetischem Harn oder aus einer kochsalzhaltigen Traubenzuckerlösung, welche gleiche Moleküle Zucker und Kochsalz enthält, krystallisirt beim Verdunsten Chlornatrium-Traubenzucker $(C_6H_{12}O_6)_2NaCl + H_2O$ in schönen sechsseitigen Doppelpyramiden oder in Rhomboëdern, die 1 cm und darüber gross werden können. Die Verbindung löst sich auch in Methylalkohol und krystallisirt schön aus der Lösung.

b. Traubenzucker-Kali, $C_6H_{11}KO_6$ (Hönig und Rosenfeld[2]), entsteht beim Mischen einer Lösung von Traubenzucker in starkem Alkohol mit alkoholischer Kalilösung als amorpher zusammenfliessender Niederschlag. Derselbe löst sich in Wasser sehr leicht, löst sich auch in schwachem Alkohol; die wässrige Lösung reagirt stark alkalisch und färbt sich beim Stehen an der Luft gelb. — Natron giebt eine ähnliche Verbindung.

c. Auch Kalk und Baryt gehen Verbindungen mit Traubenzucker ein. Nach Scheibler[3] wird eine Lösung von Dextrose in Methylalkohol durch eine gleichfalls methylalkoholische Barytlösung quantitativ gefällt.

d. Bleiessig fällt nach Brücke[4]) reinen Traubenzucker nicht, wohl aber schlägt Bleiessig aus zuckerhaltigem Harn etwas Zucker nieder; Bleisalze (auch heiss gesättigte Chlorbleilösung, nach Abeles) und Ammoniak fällen den Zucker vollständiger. Der Niederschlag wird beim Stehen, schneller beim Erwärmen roth.

e. Traubenzucker-Kupferhydrat $C_6H_{12}O_6, 5Cu(OH)_2$. Eine wässrige Lösung von Traubenzuckerkali giebt mit schwefelsaurem Kupfer einen blauen Niederschlag, der sich bald grün färbt (Heintz). Versetzt man eine Traubenzuckerlösung mit so viel schwefelsaurem Kupfer und Alkalihydrat, dass auf 1 Mol. Traubenzucker 5 Mol. Kupferhydrat

[1]) Dubrunfaut, Comptes rendus **24**. 38. 1846. — O. Gubbe, Ber. d. chem. Gesellsch. **18**. 2210. 1885. — C. Schulze u. B. Tollens, Ann. d. Ch. **271**. 53. 1892. — E. Jungfleisch u. L. Grimbert, Comptes rendus **108**. 145. 1889. — E. O. Erdmann, Dissert. de saccharo lactico et amylaceo, Berolini 1855. — A. Levy, Ztschr. f. physikal. Ch. **17**. 301. 1895. — H. Trey, daselbst **18**. 193. 1895.

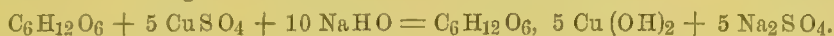
[2]) M. Hönig u. M. Rosenfeld, Berichte d. chem. Gesellsch. **10**. 871. 1877.

[3]) Scheibler, bei Leo, Virchow's Archiv **107**. 109. 1887.

[4]) Brücke, Sitzungsber. d. mathem.-naturw. Cl. der Akad. d. Wissensch. zu Wien **39**. 10.

und 11 Mol. Alkalihydrat kommen, so entsteht in der alkalischen Mischung ein blauer Niederschlag, welcher unter Umständen allen Zucker enthält (E. Salkowski, Worm-Müller u. J. Hagen[1]).

Der Niederschlag entsteht nach:



$$C_6H_{12}O_6 + 5\,CuSO_4 + 10\,NaHO = C_6H_{12}O_6,\ 5\,Cu(OH)_2 + 5\,Na_2SO_4.$$

Der Ueberschuss von 1 Mol. NaHO ist nach Salkowski nöthig, weil nach seinen Versuchen 1 Mol. $CuSO_4$ durch 2 Mol. NaOH in der Kälte nicht vollständig zersetzt wird. Wenn der Zucker möglichst vollständig in den Niederschlag übergehen soll, darf der Zuckergehalt der Gesammtmischung nach Salkowski nicht viel unter 1⁰/₀, höchstens auf 0,5⁰/₀ sinken; auch muss die Mischung einige Zeit stehen. Verdünnt man die Flüssigkeit erheblich, oder filtrirt man sofort nach der Fällung, so enthält das Filtrat noch Zucker und Kupferoxyd. Der Niederschlag giebt beim Auswaschen Zucker ab und zersetzt sich unter theilweiser Reduction des Kupferoxyds.

Die Verbindung löst sich in Natron- oder Kalilauge zu einer lazurblauen Flüssigkeit. Eine ebensolche Lösung erhält man, wenn man zu einer Traubenzuckerlösung Alkalihydrat und Kupfervitriol hinzufügt, vom Alkalihydrat aber selbstverständlich mehr, als das Kupfersulphat zur Bildung von Kupferhydrat verlangt. Wieviel Mol. $Cu(OH)_2$ auf 1 Mol. Zucker dabei in Lösung gehen, ist abhängig von der Concentration der Lauge und von der Reihenfolge, in welcher die Substanzen zusammengemischt werden.

Setzt man zu einer Mischung von Zucker und schwefelsaurem Kupfer 1 proc. Natron- oder Kalilauge im Ueberschuss hinzu, so löst sich nach Worm-Müller und J. Hagen[2]) von dem entstandenen Kupferhydrat auf 1 Mol. Zucker 3 Mol. Kupferhydrat, bei Zusatz von 2 proc. Lauge 3,5 $Cu(OH)_2$, bei Zusatz von 4 proc. Lauge 5 $Cu(OH)_2$, bei 16 proc. Lauge 7 $Cu(OH)_2$. Mehr Kupferhydrat ist überhaupt nicht in Lösung zu bringen. Dass sich in der starken Lauge mehr Kupferhydrat löst, als der Verbindung $C_6H_{12}O_6$, 5 $Cu(OH)_2$ entspricht, scheint von der Löslichkeit des Kupferhydrats in starker Kalilauge für sich verursacht zu sein. Fügt man der Zuckerlösung erst Alkalilauge und dann Kupfersulphat hinzu, so gehen auch bei Anwendung 16—32 proc. Lauge nur 3 Mol. Kupferhydrat in Lösung.

Ueber die Verbindung des Traubenzuckers, welche man nach Guignet mittelst Kupferoxyd-Ammoniak erhält, vergl. S. 77.

f. Benzoësäureester. Schüttelt man eine wässrige Traubenzuckerlösung mit Benzoylchlorid und einem Ueberschuss von Natronlauge, so bildet sich nach Baumann[3]) in Wasser und in der Lauge unlöslicher Benzoyltraubenzucker.

In einem Versuche verwendete Baumann auf 1 Mol. Zucker ungefähr 9 Mol. Benzoylchlorid und 18 Mol. Natronhydrat (5 g Zucker, 210 cc Natronlauge von 10⁰/₀ und 30 cc Benzoylchlorid). Wird das Chlorid der alkalischen Mischung auf einmal hinzugefügt, so wird eine Verbindung von nahezu der Zusammensetzung der Tetrabenzoylglykose erhalten. Sie war weiss, undeutlich krystallinisch, schmolz bei 60—64⁰, löste sich leicht in Aether, in Alkohol und in Benzol. Setzt man das

---

[1]) Heintz, Zoochemie, 562. — E. Salkowski, Pflüger's Archiv **6**. 220. 1872; Ztschr. f. physiol. Ch. **3**. 79. 1879. — Worm-Müller u. J. Hagen, Pflüger's Archiv **22**. 339.

[2]) Worm-Müller u. J. Hagen, Pflüger's Archiv **17**. 601; **22**. 322.

[3]) E. Baumann, Berichte d. chem. Gesellsch. **19**. 3218. 1886.

Chlorid nach und nach zu, so entstehen flüssige oder halbflüssige Produkte, welche dem Dibenzoyltraubenzucker ähnlich sind. Diese Verbindungen sind von Wedenski[1]) untersucht worden.

Durch 17maliges Umkrystallisiren des Rohprodukts aus Alkohol gewann Skraup als benzoylreichste Verbindung das Pentabenzoat. Die höher benzoylirten Produkte erhält man bei der Verarbeitung verdünnter (0,5 proc.) Zuckerlösung. Das anfangs dickflüssige, später spröd werdende Gemenge löst sich in Alkohol, Aether, Benzol, Ligroin, Eisessig, Aceton, Chloroform. Durch Umkrystallisiren des in Alkohol schwer löslichen Antheils aus Aether erhält man das 5-Benzoat annähernd rein, völlig rein durch Behandeln mit Eisessig bei 112⁰, in feinen Nadeln, die sich in Eisessig und in Essigsäureanhydrid ziemlich leicht, in Alkohol äusserst schwer lösen und bei 179⁰ schmelzen. Das 4-Benzoat bleibt in der ätherischen Lösung und wird auch am Leichtesten aus Eisessig rein erhalten. Schmelzpunkt 141⁰, ziemlich leicht löslich in Alkohol und in Eisessig, etwas in Aether. Die (mehrfach benzoylirten) Verbindungen werden nach Wedenski von concentrirter Salpetersäure oder concentrirter Schwefelsäure leicht aufgelöst, aber nur unvollständig verseift; Lauge lässt die Verseifung gleichfalls unvollständig und zerstört den Zucker. Eine vollständige Verseifung ohne Gefährdung des Zuckers wird dagegen nach Kueny[2]) durch Natriumalkoholat bewirkt.

Wiewohl die Ausbeute nach Wedenski keine vollständige ist, liefern doch 1—2 mg Traubenzucker in 100 cc mit 2 cc Benzoylchlorid und der entsprechenden Natronmenge noch einen sehr bemerkbaren flockigen Niederschlag.

Ueber die Benzoësäureester der Kohlenhydrate überhaupt vergl. S. 64.

g. Mit Phenylhydrazin (vergl. S. 78). Das Phenylglucosazon bildet nach E. Fischer gelbe, häufig zu Drusen angeordnete Nadeln, schmilzt in reinem Zustande bei 204—205⁰ unter Gasentwickelung, löst sich schwer in Wasser, schwer in heissem absoluten, leichter in heissem 60 proc. Alkohol, und scheidet sich aus der mit Wasser versetzten alkoholischen Lösung beim Entweichen des Alkohols wieder in Nadeln ab. In siedendem Wasser löst es sich nach Külz und Vogel in nicht gar geringer Menge und fällt beim Erkalten in langen verfilzten Nadeln als voluminöser Niederschlag wieder aus. In Aether, Chloroform, Benzol, Ligroin ist es unlöslich. Es löst sich nach Fischer und Tafel[3]) in Eisessig und diese Lösung dreht die Ebene des polarisirten Lichtes links.

Zu seiner Darstellung digerirt man nach E. Fischer eine Lösung von 1 Thl Traubenzucker mit 2 Thln salzsaurem Phenylhydrazin, und 3 Thln essigsaurem Natron oder mit der entsprechenden Menge Phenylhydrazin und Essigsäure 1—2 St. auf dem Wasserbade. Es wird nicht aller Zucker gefällt; die Menge Osazon, welche man erhält, ist vor Allem abhängig von der Concentration der Zuckerlösung und wie es scheint, auch von dem Mengenverhältniss zwischen Zucker und Phenylhydrazin.

---

1) H. Wedenski, Ztschr. f. physiol. Ch. **13**. 126. 1888.

2) Zd. Skraup, Monatshefte f. Ch. **10**. 395. 1889. — Kueny. Ztschr. f. physiol. Ch. **14**. 330. 1889.

3) E. Fischer, Berichte d. chem. Gesellsch. **20**. 821. 1887; **17**. 579. 1884. — E. Külz u. J. Vogel. Ztschr. f. Biol. **32**. 187. 1895. — E. Fischer u. J. Tafel, Berichte d. chem. Gesellsch. **20**. 2568. 1887.

Bei der Digestion einer 5proc. Zuckerlösung gewann Fischer 85—90% des Zuckers als Osazon, Panormoff bei der Digestion einer 0,9proc. Zuckerlösung mit je 5 cc Phenylhydrazin und 50proc. Essigsäure auf 100 cc Lösung 89—99%, bei Verwendung einer 0,5proc. Lösung 64—68% und selbst eine 0,1proc. Lösung gab noch Osazon, wiewohl in geringer Menge. — Nach Laves[1]) löst siedendes Wasser 0,01% Osazon, Wasser von 20° 0,0042%. Bei 20° lösen 100 Thle Essigsäure von 2% 0,007 Thle Osazon, von 3% 0,0145, von 4% 0,022, von 5% 0,031 Thle. 100 Thle schwach angesäuerter Alkohol von 10% 0,0075 Thl. Osazon.

Das Gelingen der Reaction hängt wesentlich von der Reinheit des Phenylhydrazinsalzes ab. Reines salzsaures Salz erhält man nach E. Fischer[2]) in der Weise, dass man die Basis durch Destillation von Ammoniak befreit, sie in 10 Thln Alkohol löst, mit concentrirter Salzsäure neutralisirt (ausfällt) und die abfiltrirte Krystallmasse nach dem Waschen mit Alkohol und mit (wenig) Aether im Wasserbad trocknet. Das Salz ist blendend weiss und wird beim Aufbewahren nicht braun. Das freie Phenylhydrazin liefert nach Fischer[3]) nur dann ein reines Produkt, wenn es sich in der 10fachen Menge 2proc. Essigsäure klar löst, was bei dem käuflichen Präparat nicht der Fall ist. Es muss durch wiederholte Krystallisation aus Aether und Destillation im Vacuum gereinigt werden. Aufbewahren lässt sich die Basis ohne Veränderung nur in hermetisch verschlossenen Gefässen.

Die Krystalle des Osazons sind bei der gewöhnlichen Darstellung immer, auch bei Verwendung reinen Zuckers, vermengt mit braunen Schollen und öligen Tropfen. Dieses Nebenprodukt entsteht nach Berthelot aus dem essigsauren Phenylhydrazin unter Aufnahme von Sauerstoff und Abgabe des gleichen Volumens Stickstoff nach



$$2\ C_6H_8N_2 + O_2 = C_{12}H_{12}N_2 + N_2 + 2\ H_2O,$$

und besitzt die Eigenschaften des Diphenylhydrazins. Diese braune Substanz lässt sich mit kaltem oder warmem Chloroform oder mit Alkohol von 95% wegwaschen; dann kann man einige Mal aus Alkohol von 60% umkrystallisiren oder nach Moritz das Osazon aus seiner alkoholischen Lösung mit Ligroin fällen. Hugounenq krystallisirt das mit kaltem Wasser, Alkohol, Aceton gewaschene Osazon erst aus Anisol, dann aus verdünntem Alkohol um. — Nach Geyer sowie Hirschl[4]) ist das Glykuronsäureosazon vom Glucosazon in der Krystallform und den Löslichkeitsverhältnissen nicht verschieden (aber im Schmelzpunkt).

Durch die Linksdrehung seiner Lösung in Eisessig unterscheidet sich das Glucosazon von dem ihm im Uebrigen ähnlichen Galactosazon, das in eisessigsaurer Lösung optisch inactiv ist, von anderen Zuckerarten und der Glykuronsäure durch seinen Schmelzpunkt.

h. Durch die Diphenylhydrazin- und die Benzhydrazidverbindung (S. 80 f.) lässt sich die Glucose von der Levulose trennen, aus dem Benzhydrazid sich zudem die Glucose leicht wieder gewinnen. Zur Ausführung der Trennung sind aber grössere Zuckermengen erforderlich.

i. Von den Mercaptalen (S. 77) ist das Glucose-Amylmercaptal ausgezeichnet durch seine Schwerlöslichkeit. Es entsteht nach E. Fischer[5]) beim Erwärmen der Zuckerlösung mit dem Mercaptan auf 35—40°, bildet feine Nadeln vom Schmelzpunkt 138—142°, ist in kaltem Wasser fast unlöslich, auch in heissem

---

[1]) E. Fischer, a. a. O. **17**. 579. — A. Panormoff, Ztschr. f. physiol. Ch. **17**. 601. 1893. — E. Laves, Archiv d. Pharm. **231**. 366; Ztschr. f. analyt. Ch. **33**. 227.

[2]) E. Fischer, a. a. O. **17**. 573.

[3]) E. Fischer, a. a. O. **28**. 1437. 1895.

[4]) Berthelot, Bulletin de la Soc. chim. [3] **11**. 898. 1894. — F. Moritz, Archiv f. klin. Med. **46**. 257. 1890. — Hugounenq, Journ. de pharm. et de chimie [6] **4**. 447; Chem. Centralbl. 1897. **1**. 61. — J. Geyer, Wiener med. Presse 43. 1889. 1686. — J. A. Hirschl, Ztschr. f. physiol. Ch. **14**. 377. 1892.

[5]) E. Fischer, Berichte d. chem. Gesellsch. **27**. 679. 1894.

schwer, in heissem Alkohol ziemlich leicht löslich. Verdünntes Alkali löst von ihm kaum mehr als Wasser. Durch verdünnte Salzsäure (6 proc.) wird es langsam in seine Bestandtheile zerlegt.

5. Zersetzungen.

a. Erwärmt man eine Traubenzuckerlösung mit Natron- oder Kalilauge, so färbt sie sich schon unter der Siedehitze gelb bis dunkelbraun, die Intensität der Färbung ist abhängig von dem Gehalt der Mischung an Zucker und an Alkalihydrat (Moore, Heller[1]). Die Reaction tritt auch bei gewöhnlicher Temperatur ein, aber viel langsamer. — Mucin giebt dieselbe Reaction.

Nach Worm-Müller und Hagen genügt auf 1 Mol. Zucker schon 1 Mol. Alkalihydrat, um die Bräunung hervorzurufen, wobei die Flüssigkeit neutral werden kann. Auch die kohlensauren Alkalien bewirken die Farbenveränderung, aber viel schwächer als die Laugen und in noch geringerem Grade wirkt das Ammoniak. Die alkalischen Erden färben die Zuckerlösung in der Wärme gleichfalls dunkler. Kalkwasser bewirkt nur Gelbfärbung und die Flüssigkeit nimmt bald eine neutrale Reaction an. Kalkmilch färbt dunkler, weil an Stelle des neutralisirten Kalkhydrats anderes in Lösung geht, und es entsteht dabei ein braungelber Niederschlag. Bleihydrat giebt nach Rubner[2]) mit zunehmender Concentration der Zuckerlösung einen fleischfarbenen oder rosenrothen Niederschlag.

Die Zersetzung des Traubenzuckers wächst nach Framm[3]) mit der Menge des Alkalis; aquivalente Mengen Natrium- und Kaliumhydrat zersetzen unter gleichen Umständen gleich viel Zucker. Einleiten von Wasserstoff verhindert die Gelbfärbung nicht. Lüften beschleunigt die Zerstörung des Zuckers, die Gelbfärbung bleibt aber vollkommen aus, wenn der alkalischen Lösung fortwährend Sauerstoff zugeführt wird.

Ueber den chemischen Vorgang bei dieser Reaction ist Folgendes bekannt. Die braunen Produkte sind unvollständig untersuchte, mit verschiedenen Namen (Glucinsäure, Melassinsäure u. s. w.) belegte Substanzen. Ausserdem entstehen noch eine Reihe anderer Körper. Kühne hat zuerst beobachtet und Worm-Müller und Hagen haben bestätigt, dass Traubenzucker in Berührung mit schwacher Alkalilauge, beim Erwärmen sowie auch in gewöhnlicher Temperatur, eine Substanz liefert, welche schon in der Kälte alkalische Kupferhydratlösung reducirt. Emmerling und Loges[4]) haben dann höchst wahrscheinlich gemacht, dass diese Substanz Acetol CH_3-CO-CH_2.OH (Acetonalkohol, Acetylcarbinol, Brenztraubenalkohol) ist.

Weiter ist von Hoppe-Seyler in dem braunen Produkt neben wenig Brenzkatechin und Ameisensäure viel Gährungsmilchsäure nachgewiesen worden; Nencki und Sieber erhielten in einem solchen Versuch 41^0/$_0$ des Zuckers an Milchsäure, daneben noch eine nicht in Aether, aber in Alkohol lösliche amorphe Säure, welche ein amorphes Barytsalz lieferte. Rochleder und Kawalier wiesen Aceton nach. Nach Gaud findet sich vor ausser der Glucinsäure von Mulder Gluconsäure, Glycerinsäure (die zweite Säure von Nencki und Sieber), Milchsäure, Oxalsäure, Protokatechusäure, der Milchsäure-Brenzkatechinäther $HO\text{-}C_6H_4\text{-}O\text{-}CH \begin{cases} CH_3 \\ COOH \end{cases}$ und der Milchsäure-Brenzkatechinester $HO\text{-}C_6H_4\text{-}O.CO\text{-}CH.OH\text{-}CH_3$, von welchen am Ende der Reaction Brenzkatechin, Milchsäure, die Verbindungen beider und

---

1) John Moore, Lancet II. 26. September 1844. — F. Heller, dessen Archiv 1. 212 (November) u. 292. 1844; 4. 310.

2) M. Rubner, Ztschr. f. Biol. 20. 397. 1884.

3) F. Framm, Pflüger's Archiv 64. 575. 1896.

4) Kühne, Lehrbuch der physiol. Ch. 1868. 518. — Worm-Müller u. J. Hagen, Pflüger's Archiv 22. 391. 1880. — A. Emmerling u. G. Loges, Pflüger's Archiv 24. 184. 1881; Ber. d. chem. Gesellsch. 16. 837. 1883.

Oxalsäure angetroffen werden. Bei guter Lüftung erhielt Framm[1]) viel Ameisensäure (im Mittel 56,8% des zerstörten Zuckers) und Aldehyd, aber weder Milchsäure noch Essigsäure oder Kohlensäure.

Unter den bei der Einwirkung von Kalk entstehenden Produkten sind Saccharinsäure und gleichfalls Milchsäure aufgefunden worden (Peligot, Kiliani); dabei scheint nach Scheibler auch Acetol zu entstehen. Gautier[2]) erhielt bei der Einwirkung von Barythydrat auf Glykose bei 240° Ameisensäure, Essigsäure, Oxalsäure, Brenzkatechin und Protokatechusäure in geringen Mengen, ausserdem eine syrupartige Säure mit krystallisirendem Zinksalz, die jedoch nicht blos Milchsäure zu sein scheint.

Gaud giebt folgende Darstellung vom Gang der Reaction. Zuerst entsteht aus dem Zucker durch Wasserentziehung (die Mulder'sche) Glucinsäure $C_{12}H_{18}O_9$; diese zerfällt in Brenzkatechin $C_6H_4(OH)_2$ und Gluconsäure, die Gluconsäure aber weiter in Glycerinsäure $C_3H_6O_4$ und Milchsäure $C_3H_6O_3$, von welchen sich die Milchsäure mit dem Brenzkatechin verbindet, die Glycerinsäure aber in der Lauge Milchsäure und Oxalsäure liefert. Dieselben Produkte entstehen auch in Folge einer nebenher gehenden Zersetzung des Zuckers durch die Lauge bei der Behandlung des Zuckers mit Fehling'scher Lösung. Die Zwischenprodukte kann man nachweisen, indem man der Reactionsflüssigkeit ein Metalloxyd zufügt, welches sie bindet und abscheidet. Hält man das bei der Verwendung von Fehling'scher Flüssigkeit gebildete Kupferoxydul in Lösung, so fällt Bleihydrat die Glucinsäure und die Gluconsäure und im Filtrat findet sich keine der aus ihnen entstehenden Verbindungen. Cadmiumhydrat fällt die Gluconsäure, und in der Flüssigkeit findet sich das neben der Gluconsäure aus der Glucinsäure entstandene Brenzkatechin vor. Zinnchlorür scheidet die Milchsäure ab, Glucinsäure und Gluconsäure sind nicht mehr zugegen, aber Brenzkatechin und seine Verbindungen mit der Milchsäure. Wismuthhydrat macht die Glycerinsäure beständig, und dann findet sich keine Spur Oxalsäure vor.

Bei dieser Darlegung hat Gaud das Acetol und den Umstand unberücksichtigt gelassen, dass die Flüssigkeit während der Reaction Sauerstoff aus der Luft aufnimmt, nach Nencki und Sieber auf 1 Mol. Zucker ungefähr 1 Mol. O_2. Das Acetol liefert aber nach Breuer und Zincke[3]) bei der Oxydation mit (alkalischer) Kupferlösung Milchsäure; es wird dabei zunächst in den Brenztraubenaldehyd (Methylglyoxal) $CH_3-CO-C.H.O$ verwandelt, welcher in der alkalischen Flüssigkeit unter Aufnahme von Wasser sofort in Milchsäure $CH_3-CH.OH-COOH$ übergeht. — Die bei lebhafter Sauerstoffzufuhr stattfindende Bildung von Aldehyd und Ameisensäure erklären sich aus einer Spaltung der Milchsäure.

b. Eine Lösung von Traubenzucker-Kupferhydrat in Kali- oder Natronlauge (vgl. B. 4. e. S. 96) scheidet beim Erwärmen sogleich einen gelben oder rothen Niederschlag von Kupferoxydul ab (Becquerel, Trommer[4]).

---

1) F. Hoppe-Seyler, Tübinger Untersuchungen 1871. 586; Ber. d. chem. Gesellsch. **4**. 436. 1871. — Nencki u. Sieber, Journ. f. prakt. Ch. [2] **24**. 498. 1881. — Rochleder u. Kawalier, Journ. f. prakt. Ch. **94**. 403. — F. Gaud, Comptes rendus **119**. 604. 1894. — Allain u. Gaud, Journ. de Pharm. et de Chimie **30**. 300; Chem. Centralbl. 1894. **2**. 776. — Framm, a. a O.

2) Peligot, Comptes rendus **89**. 918; **90**. 1141; Berichte d. chem. Gesellsch **13**. 196 u. 1364. 1880. — Kiliani, Berichte d. chem. Gesellsch. **15**. 701. 1882. — Scheibler, Ber. d. chem. Gesellsch. **13**. 2213. 1880. — A. Gautier, Bull. de la Soc. chim. [2] **31**. 530; Chem. Centralbl. 1879. 531.

3) Nencki u. Sieber, Journ. f. prakt. Ch. (2) **26**. 3. 1882. — A. Breuer u. Th. Zincke, Ber. d. chem. Gesellsch. **13**. 637. 1880.

4) A. C. Becquerel, Ann. de Chim. et de Phys. [2] **47**. 15. 1831. — Trommer, Ann. d. Chem. u. Pharm. **39**. 360. 1841.

Der gelbe Niederschlag ist Kupferoxydulhydrat; er entsteht in schwach alkalischer Flüssigkeit und bleibt lange suspendirt, während sich der rothe Niederschlag, Kupferoxydul-Anhydrid, in stark alkalischer Lösung bildet und schnell absetzt. — Concentrirte Traubenzuckerlösung reducirt das Kupferhydrat beim Sieden nach Monnet[1]) bis zu metallischem Kupfer.

Die Menge Kupferoxyd, welche durch 1 Mol. Traubenzucker in alkalischer Lösung zu Oxydul reducirt wird, kommt unter den günstigsten Verhältnissen 5 Mol. nahe, entspricht aber diesem Verhältniss, wie überhaupt einem stöchiometrischen Verhältnisse, keineswegs genau, woraus folgt, dass bei der Trommer-schen Probe die Oxydation des Zuckers nicht blos nach einer Art vor sich geht. Das Verhältniss, in welchem das Kupferoxyd durch den Zucker reducirt wird, ist nach Soxhlet[2]) vor Allem abhängig von der Concentration der Kupferlösung; setzt man zu einer 1 proc. Lösung von wasserfreiem Traubenzucker genau so viel einer alkalischen Kupferhydratlösung mit 34,64 g krystallisirtem Kupfervitriol im Liter (Fehling'sche Lösung), als der Zucker gerade zu reduciren vermag, so werden zur Oxydation von 1 Mol. Zucker 5,26 Mol. Kupferoxyd verbraucht, während unter sonst gleichen Verhältnissen 1 Mol. Zucker bei der Oxydation mit einer eben solchen, aber auf das 5 fache Volumen verdünnten Kupferlösung durch 5,055 Mol. Kupferoxyd reducirt wird.

Stellt man sich die Lösung von Zucker und Kupferhydrat in Alkalilauge in der Weise dar, dass man die Zuckerlösung zuerst mit Alkali stark alkalisch macht und darauf mit so viel Kupfervitriol versetzt, dass sich der entstehende Niederschlag von Kupferhydrat gerade noch löst, so enthält die Flüssigkeit nach B. 4. e. S. 97 mehr Zucker, als durch das Kupferoxyd oxydirt werden kann, und der Rest Zucker wird wie bei der Moore'schen Probe zersetzt: die Flüssigkeit färbt sich bei starkem Erhitzen braun und das Kupferoxydul erscheint dann dunkel kupferroth. Dieser Nebenreaction lässt sich dadurch einigermaassen vorbeugen, dass man der Flüssigkeit so viel Kupfersulphat hinzufügt, dass sich das Kupferhydrat nicht mehr völlig löst; denn auch unter diesen Umständen werden nach Worm-Müller u. Hagen von 1 Mol. Zucker 5 Mol. Kupferhydrat oder etwas mehr reducirt, mag sich das Kupferhydrat schon im Beginn der Reaction völlig in Lösung befinden oder nicht. Ein grösserer Ueberschuss von Kupferhydrat beeinträchtigt die Reinheit der Reaction aber insofern, als das Kupferhydrat, welches nicht mehr reducirt werden kann, beim Kochen der Flüssigkeit in ein wasserärmeres Hydrat $2\,CuO, Cu(OH)^2$ übergeht, ein schwarzer voluminöser Niederschlag, welcher wenig Kupferoxydul ganz verdecken kann. — Setzt man umgekehrt der Zuckerlösung erst Kupfervitriol und dann Lauge zu, so kann sich zwar im Verhältniss zum Zucker mehr Kupferhydrat lösen, aber es kann auch hier, und zwar noch leichter, das Maass des Kupfersulphatzusatzes überschritten werden und schwarzes Kupferoxyd entstehen.

Diesem Uebelstande kann man ausweichen, wenn man dafür sorgt, dass der Ueberschuss von Kupferhydrat, welcher von dem Zucker nicht mehr gelöst oder nicht mehr reducirt werden kann, durch eine andere Substanz in Lösung erhalten wird, welche das Kupferoxyd nicht reducirt; als solche eignen sich neutrale weinsaure Salze (Barreswil, Fehling) oder Glycerin (Kletzinsky, Löwe) u. A. Man löst Seignettesalz (weinsaures Kali-Natron) in Wasser, macht die Flüssigkeit mit Natron- oder Kalilauge alkalisch und tröpfelt unter Umschütteln Kupfervitriollösung zu, bis die Flüssigkeit dunkelblau ist; sie muss alles zugesetzte Kupferoxyd in Lösung enthalten und darf beim Kochen kein schwarzes Kupferoxyd abscheiden, was sie thut, wenn sie zu wenig weinsaures Salz enthält. Auch muss sie immer frisch bereitet werden, weil alte Lösung beim Kochen für sich Kupferoxydul abscheiden kann. Stellt man mit solcher Lösung die Probe an, so wird das den Umständen nach mögliche Maximum an Kupferoxyd reducirt.

Eine bereits mit Alkalihydrat gekochte Zuckerlösung reducirt auf nachträglichen Zusatz von Kupferhydrat schwächer als vorher oder gar nicht mehr.

---

1) Monnet, Bull. de la Soc. chim. [2] **51**. 83. 1889.
2) F. Soxhlet, Journ. f. prakt. Chem. [2] **21**. 254.

Der Zucker wird auch bei Abwesenheit von Alkalihydrat durch Kupferhydrat in der Siedehitze oxydirt, aber sehr langsam (Worm-Müller und Hagen, Habermann und Hönig[1]).

Die Temperatur, bei welcher die Reduction vor sich geht, ist nach Worm-Müller und J. Hagen abhängig von der Concentration der zugesetzten Lauge. Enthält die Flüssigkeit auf 1 Mol. Zucker und 5 Mol. Kupferhydrat nur 1 Mol. Alkalihydrat, so muss man stundenlang kochen, um alles Kupferoxyd zu reduciren, während ein Zusatz von 2 Mol. Alkalihydrat die Kochdauer auf einige Minuten abkürzt. Bei Zusatz von noch mehr Alkalihydrat erfolgt die Reduction schon unterhalb der Siedehitze, ja schon bei gewöhnlicher Temperatur; aber sie tritt um so langsamer ein, je niedriger die Temperatur ist, und es wird nicht mehr das Maximum der Reduction erreicht.

Die Probe ist ausserordentlich empfindlich. Trommer konnte durch dieselbe noch $^{1}/_{100000}$, selbst $^{1}/_{1000000}$ Zucker nachweisen. Unter den günstigsten Bedingungen fanden Worm-Müller und J. Hagen beim Kochen mit der Trommer'schen Probe noch 0,025 mg, mittelst Fehling'scher Flüssigkeit noch 0,008 mg Zucker in 1 cc, bei gewöhnlicher Temperatur noch 3 mg in 5 cc (0,06 %), Seegen[2]) in der Kälte nicht weniger als 0,1 %, bei Anwendung von Fehling-scher Flüssigkeit Müller und Hagen aber noch kleinere Mengen.

Die Reaction tritt auch noch ein bei Gegenwart von kohlensaurem Alkali oder von Ammoniak, bei Anwesenheit von Ammoniak statt Alkalihydrat oder Alkalicarbonat aber erst nach längerem Kochen. Die Flüssigkeit entfärbt sich und das Kupferoxydul bleibt in Lösung; sie wird weiterhin gelb, dann von der Oberfläche aus grün oder blau, weil sich das in Lösung befindliche Oxydul durch den Sauerstoff der Luft wieder zu Kupferoxyd oxydirt, das dann gleichfalls in Lösung bleibt; endlich kann sich die Flüssigkeit auch beim fortschreitenden Entweichen von Ammoniak oder beim Erkalten oder Verdünnen durch ausfallendes Oxydul trüben. Enthält die Flüssigkeit viel mehr Kupferhydrat, als der Zucker zu reduciren vermag, dann bleibt sie blau und es hat den Anschein, als ob gar keine Reduction stattgefunden habe. Alle diese Erscheinungen können auch bei Anstellung der Probe unter Zusatz von Natron- oder Kalilauge eintreten, wenn die Zuckerlösung zugleich Ammonsalze enthält. Die Reduction erfolgt aber noch schnell, wenn der Probe mehr Alkalihydrat zugefügt worden ist, als zur völligen Zersetzung des Ammonsalzes nöthig war. Das Kupferoxydul kann auch ganz oder theilweise in Lösung bleiben, wenn die Flüssigkeit Substanzen enthält, die selbst oder deren Zersetzungsprodukte das Oxydul zu lösen vermögen, wie Kreatin, Kreatinin, Harnsäure, Eiweisskörper. Eine solche Flüssigkeit verhält sich dann ganz so wie eine Lösung des Oxyduls in Ammoniak. Sehr viel starke Lauge bildet nach Worm-Müller und Hagen aus dem Zucker Substanzen, welche Kupferoxydul lösen.

Auch unter ganz normalen Verhältnissen kann es unter Umständen Schwierigkeiten machen, kleine Mengen Oxydul, namentlich in gefärbten Flüssigkeiten (Fehling'scher Flüssigkeit) zu erkennen. Das in der Flüssigkeit suspendirte Oxydul nimmt man am Besten wahr, wenn man die Flüssigkeit (durch Tageslicht) hell beleuchtet und sie gegen einen dunklen Hintergrund hält; sie zeigt dann einen röthlichen Schimmer. Das Oxydul setzt sich aus der Flüssigkeit endlich ab und man findet es auf dem Boden des Reagensglases, wenn die auf- und abströmende heisse Flüssigkeit durch Erkalten zur Ruhe gekommen ist; das Absitzen des Oxyduls lässt sich daher beschleunigen durch Abkühlen der Flüssigkeit.

Wie durch Zucker wird alkalische Kupferoxydlösung auch reducirt durch andere im normalen oder pathologischen Harn vorkommende Substanzen; dies thun Harnsäure, Kreatinin und Kreatin, Allantoin, Mucin, Brenzkatechin und Hydrochinon, die Alkaptonsäuren, Gallenfarbstoff, Urobilin, Glykuronsäureverbindungen, vielleicht auch das Indican etc.

---

1) Worm-Müller u. Hagen, Pflüger's Archiv **22**. 349. — J. Habermann u. M. Hönig, Monatshefte f. Chemie **3**. 651. 1882.

2) Worm-Müller u. J. Hagen, Pflüger's Archiv **22**. 374. — Seegen, Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1875. 323.

Die Harnsäure verhält sich nach Worm-Müller[1]) jedoch dem Zucker nicht ganz gleich, weil sie die alkalische Kupferlösung bei 60—70° nicht reducirt, was dagegen der Zucker thut. Das Kreatinin reducirt gut erst nach längerem Kochen, jedoch auch unterhalb der Siedehitze, bei 60° aber nur schwach und unvollständig; es ist im Stande, etwas mehr Kupferoxydul in Lösung zu erhalten, als es selbst zu bilden vermag.

Als Produkte dieser Oxydation des Zuckers erhielt Claus Ameisensäure, Essigsäure, vielleicht Tartronsäure und mehrere andere syrupförmige Säuren, welche sich beim Concentriren ihrer Lösung selbst im Vacuum über Schwefelsäure sehr dunkel färbten und beim Erhitzen für sich oder mit verdünnter Schwefelsäure Oxalsäure bildeten; die Tartronsäure entstand in sehr kleiner Menge. Auch schien sich ein gummiartiger Körper zu bilden. Habermann und Hönig[2]) gewannen aus reiner Dextrose (ebenso wie aus Levulose) Kohlensäure, Ameisensäure, Glykolsäure und eine oder mehrere nicht näher untersuchte Säuren, darunter wahrscheinlich Gluconsäure; die Maltose lieferte ausserdem vielleicht noch Glycerinsäure, die Galactose noch Milchsäure und flüchtige Säuren. Bei der Oxydation von Traubenzucker mit rothem Quecksilberoxyd und Baryumhydrat wies Herzfeld ausser Ameisensäure und Glykolsäure mit Bestimmtheit Gluconsäure nach. Levulose lieferte bei der gleichen von Börnstein und Herzfeld ausgeführten Oxydation Trioxybuttersäure und Glykolsäure. Nach Gaud[3]) entstehen bei der Oxydation des Traubenzuckers vorwiegend Gluconsäure, Zuckersäure und Tartronsäure, von welchen nach Gaud unter normalen Bedingungen (bei Verwendung des Zuckers in theoretischer Menge) nur die Tartronsäure übrig bleibe; neben diesen Säuren entstehe sehr wenig Ameisensäure und Oxalsäure. Die Zuckersäure und die Tartronsäure entstehen nach Gaud aus der Gluconsäure; fällt man während der Reaction die entstehende Gluconsäure mit Cadmiumhydrat, so bildet sich weder Zuckersäure noch Tartronsäure; auch wenn die entstehende Milchsäure (durch Zinnchlorür) gefällt wird, tritt nach Gaud keine Tartronsäure auf (vergl. S. 101). Milchsäure wird nach F. Hoppe-Seyler nach der Oxydation des Zuckers mit alkalischer Kupferoxydlösung höchstens in Spuren gefunden. Habermann und Hönig haben die Tartronsäure und den gummiartigen Körper, der in den Versuchen von Claus vielleicht von einer Verunreinigung des Zuckers herrührte, nicht angetroffen. Indess unterscheiden sich die beiden Resultate nicht wesentlich, da die Tartronsäure COOH-CH.OH-COOH leicht in Kohlensäure und Glykolsäure CH_2.OH-COOH zerfällt.

Claus stellte ausserdem fest, dass sich aus 1 Mol. Zucker mit Ausschluss der Kohlensäure nur so viel Säuren bilden, als durch 1 Mol. KOH neutralisirt werden. — Neben der Oxydation des Zuckers geht nach Gaud eine Zersetzung desselben durch die Lauge einher. — Herzfeld machte die Wahrnehmung, dass das Erstprodukt in grösserer Menge nur bei mässiger Oxydation entsteht; bei lebhafterer Oxydation (mit gelbem Quecksilberoxyd statt rothem) bilden sich vielmehr kohlenstoffärmere Stoffe. Lässt man das Quecksilberoxyd länger einwirken, als bis Fehling'sche Flüssigkeit gerade nicht mehr reducirt wird, so treten wieder reducirende Substanzen auf.

In Bezug auf die Oxydation des Milchzuckers und der Maltose durch Kupferoxyd machte Herzfeld[4]) die merkwürdige Beobachtung, dass bei der

---

1) Worm-Müller, Pflüger's Archiv **27**. 47. 63. 81. 1882.

2) Ad. Claus, Ann. d. Ch. u. Pharm. **147**. 114. 1868; Journ. f. prakt. Ch. [2] **4**. 63. 1871. — J. Habermann u. M. Hönig, Monatshefte f. Ch. **3**. 651. 1882; **5**. 208. 1884.

3) A. Herzfeld, Ann. d. Chemie **245**. 27. — Börnstein u. Herzfeld, Zeitschr. des Vereins f. d. Rübenzuckerindustrie im deutschen Reich 1886. 42; Ann. a. a. O. — F. Gaud, Comptes rendus **119**. 604. 1894. — Allain u. Gaud, Journ. de Pharm. et de Chimie **30**. 300; Chem. Centralbl. 1894. **2**. 776. — F. Hoppe-Seyler, Ztschr. f. physiol. Ch. **19**. 481. 1894.

4) Herzfeld, Ann. d. Chemie **220**. 220. 1883.

Einwirkung von Fehling'scher Flüssigkeit auf diese Zucker, dagegen nicht beim Kochen mit Kupferhydrat und Lauge für sich, eine für sich nicht weiter oxydirbare Substanz entsteht, welche beim Kochen mit Salzsäure wieder einen reducirenden Körper liefert.

c. Eine schwache Lösung von essigsaurem Kupfer (0,5—4 %) welcher 1 % Essigsäure zugesetzt ist, scheidet beim Kochen mit Traubenzucker Kupferoxydul aus, beim Kochen mit Milchzucker (und anderen Biosen nach F. Voit) dagegen nicht (Barfoed[1]).

Wenn man zu einer heissen Lösung von Kupfersulphat Traubenzucker setzt und dann ein Acetat, so erfolgt die Reduction auch. — Der Harn enthält Substanzen, welche das essigsaure Kupfer noch leichter reduciren, wie der Traubenzucker, die aber kein Zucker sind (Worm-Müller[2]).

d. Versetzt man eine Zuckerlösung mit dem gleichen Volumen einer Lösung von kohlensaurem Natron (3 Theile Wasser und 1 Theil krystallisirtes Salz), fügt etwas basisch salpetersaures Wismuth hinzu und kocht eine Zeit lang, so wird das Wismuthoxyd unter Schwarzfärbung (zu metallischem Wismuth?) reducirt (Böttger[3]).

Man bemerkt dabei die Schwärzung schon an dem auf dem Boden des Reagensglases liegenden Wismuthsalz; ein in Lösung gegangener Theil Wismuthoxyd scheidet sich bei längerem Erhitzen als schwarzer Niederschlag aus. Bei Verwendung von Natron- und Kalilauge statt des Carbonats bedarf es zur Reduction nur schwachen und kurzen Erwärmens. Statt des basischen Salzes kann man auch die Lösung eines Wismuthsalzes (Nitrat, Jodwismuth-Kalium) hinzufügen, jedoch nur so viel, dass auf Zusatz von Lauge nur ein mässiger Niederschlag von Wismuthhydrat entsteht. Es ist dann ein Theil des Wismuthhydrats in der zuckerhaltigen Flüssigkeit gelöst und der Niederschlag geht beim Erwärmen noch ganz oder theilweise in Lösung. Beim Kochen scheidet sich dann, in der Regel wenn die Flüssigkeit schon braun geworden ist, der schwarze, die ganze Flüssigkeit füllende feine Niederschlag plötzlich aus. Bei beiden Arten der Probe kann ein grosser Ueberschuss an Wismuthoxyd, wenn wenig davon reducirt wird, den schwarzen Niederschlag ganz oder theilweise verdecken.

Ebenso lässt sich eine alkalische Lösung von Wismuthoxyd in weinsaurem Salz und Alkalihydrat verwenden, wie sie zuerst von Francqui und Van de Vyverre und von Almén hergestellt, später von Nylander zu seiner Zuckerprobe verwendet wurde. (Almén löste 2 g Wismuthsubnitrat und 4 g Seignettesalz in 100 g Kalilauge von 1,33 Dichte = 28 % K_2O.) Das in Frankreich gebräuchliche Reagens von Loewe[4]) besteht aus einer in der Wärme bereiteten filtrirten Lösung von 15 g Wismuthsubnitrat in einer Mischung von 30 g Glycerin, 70 cc Natronlauge von 1,34 Dichte (mit 30 % NaOH) und 150 cc Wasser.

Von Harnsäure, Kreatinin, Brenzkatechin, Hydrochinon wird das Wismuthoxyd in Almén'scher Lösung nicht reducirt, wohl aber nach Worm-Müller Jodwismuthkalium durch Kreatinin bei 2—3 Min. langem Kochen; die Alkaptonsäuren

---

[1]) F. Voit, Sitzungsber. d. Gesellsch. f. Morphologie u. Physiologie in München 5. 66; Jahresber. f. Thierch. 1890. 186. — Barfoed, Journ. f. prakt. Chem. [2] 6. 334. 1872; Ztschr. f. analyt. Chem. 12. 27.

[2]) Worm-Müller, Pflüger's Archiv 16. 561. 1878.

[3]) Böttger, Journ. f. prakt. Chem. 70. 432; Chem. Centralbl. 1857. 704.

[4]) J. B. Francqui u. E. Van de Vyverre, Gaz. méd. de Paris 44. 1866. 705. — A. Almén, Virchow-Hirsch Jahresber. 1869. 1. 109. — Loewe, Agenda du chimiste. Paris, Hachette & Co. 1889. 448.

reduciren Wismuthoxyd gleichfalls nicht; Rhodansalze und unterschwefligsaure Salze sind nach Maschke[1]) ohne Einfluss auf die Reaction, Eiweiss kann jedoch zur Bildung von Schwefelwismuth Anlass geben.

e. Alkalische Quecksilberoxydlösung (Quecksilbercyanid nach Knapp, oder Jodquecksilberkalium nach Sachsse, in Kalilauge) wird in der Wärme durch Traubenzucker zu metallischem Quecksilber reducirt.

Bei der Sachsse'schen Lösung ist der Alkaligehalt derselben innerhalb gewisser Grenzen ohne Einfluss auf die Menge Quecksilberoxyd, welche durch eine bestimmte Quantität Zucker reducirt wird (Heinrich), während bei der Knapp-schen Lösung das Reductionsvermögen des Zuckers mit der Zunahme der Lösung an Alkali abnimmt (Soxhlet). Die Lösung wird durch Kreatinin und Kreatin reducirt, nach Haas[2]) auch durch Alkohol oder Glycerin.

Aehnlich wie die alkalischen Quecksilberlösungen verhält sich gegen den Zucker eine Lösung von essigsaurem Quecksilberoxyd, welche in Gegenwart von Chlornatrium beim Erwärmen mit einer Zuckerlösung einen Niederschlag von Quecksilberchlorür giebt (Hager[3]). Die Reduction erfolgt aber langsam. Durch Harnsäure wird die Lösung nicht reducirt, aber der Harn enthält ausserdem noch Substanzen, welche diese Reduction gleichfalls bewirken.

f. Ausser den angeführten Reactionen giebt es noch eine Reihe anderer, bei welchen allen der Zucker in alkalischer Lösung eine Reduction bewirkt.

Silber- und Goldoxyd werden zu Metall reducirt. Erhitzt man 5 Tropfen Zuckerlösung mit ebenso viel Goldchloridlösung (1 : 1000) und 2 Tropfen einer 5 proc. Kalilauge zum Sieden, so tritt nach Agostini beim Erkalten eine violette Färbung ein; von anderen Harnbestandtheilen giebt nach Agostini nur noch das Eiweiss diese Reaction. Aus einer ammoniakalischen mit fixem Alkali versetzten Silberlösung scheidet Traubenzucker schon in der Kälte metallisches Silber ab (Tollens[4]).

Eine Lösung von Eisenchlorid in weinsaurem Salz und kohlensaurem Natron färbt sich beim Kochen mit Traubenzucker dunkler und setzt bald einen voluminösen, Eisenoxydul enthaltenden Niederschlag ab (Löwenthal). Jeder Harn giebt diese Reaction.

Eine mit fixem Alkali versetzte Traubenzuckerlösung nimmt nach Rosenbach beim Kochen mit einigen Tropfen gesättigtem Nitroprussidnatrium eine orangerothe bis tief braunrothe Färbung an, die bei mehr als 0,25 % Zucker noch deutlich ist; eine 0,1 proc. Zuckerlösung wird nur dunkelgelb mit einem Stich in's Rothe. Beim nachträglichen Ansäuren wird die Probe lasurblau. Kreatinin stört die Reaction nicht, da die durch dieses hervorgerufene Färbung beim Erwärmen verschwindet, aber andere reducirende Stoffe des Harns können eine Orangefärbung veranlassen. Bei Verwendung von Ammoniak an Stelle des fixen Alkalis wird die Flüssigkeit nur grün. — Nach Malfatti[5]) wird die Reaction nicht durch das

1) Worm-Müller, Pflüger's Archiv **27**. 91. 1882. — Maschke, Ztschr. f. analyt. Ch. **16**. 426. 1877.

2) Heinrich, Chem. Centralbl. 1878. 409. — Soxhlet, a. a. O. 310. — B. Haas, Ztschr. f. analyt. Ch. **22**. 119 f. 1883.

3) H. Hager, Ztschr. f. analyt. Ch. **17**. 380. 1878.

4) C. Agostini, Ann. di Chim. e Farm.; Chem. Centralbl. 1887. 99. — Tollens, Berichte d. chem. Gesellsch. **15**. 1636.

5) J. Löwenthal, Journ. f. prakt. Ch. **73**. 71. 1858. — O. Rosenbach, Centralbl. f. klin. Med. **13**. 257; Ztschr. f. analyt. Ch. **31**. 724. — H. Malfatti, Internat. Centralbl. f. d. Physiol. u. Pathol. der Harn- u. Sexualorgane **4**. 188; Jahresber. f. Thierch. 1893. 257.

Nitroprussidnatrium selbst, sondern durch das aus ihm entstehende Eisenoxydhydrat bewirkt.

Eine alkalische Permanganatlösung wird durch Traubenzucker augenblicklich reducirt (Baeyer[1]).

Wolframsäure wird durch eine mit Natronlauge versetzte Traubenzuckerlösung nicht reducirt (Maschke[2]).

Eine mit Natron- oder Kalilauge versetzte Lösung von Ferricyankalium entfärbt sich nach Zusatz von Traubenzucker schon in gelinder Wärme; die Flüssigkeit enthält dann Ferrocyankalium (Gentele[3]). Harnsäure bewirkt dieselbe Reduction schon in der Kälte sofort.

Werden 2—3 cc Safraninlösung (1 : 1000) mit dem gleichen Vol. 10 proc. Natronlauge und einigen Tropfen einer 0,1 proc. Zuckerlösung erwärmt, so tritt nach Crismer[4]) bei 60—65° unter milchiger Trübung Entfärbung ein. An der Luft bildet sich der Farbstoff zurück. Harnsäure, Kreatin, Chloral, Chloroform, Wasserstoffsuperoxyd, Hydroxylamin, welche Fehling'sche Lösung reduciren, entfärben das Safranin nicht; aber Eiweiss entfärbt langsam und vollkommen. Normaler Harn verhält sich gegen das Reagens wie eine Zuckerlösung von mehreren 0,01 %.

Nach Ihl wird eine mit Natriumcarbonat versetzte Methylenblaulösung durch geringe Mengen Invertzucker, Traubenzucker, Dextrin entfärbt. Eine 0,2 proc. Invertzuckerlösung entfärbt nach Herzfeld 1—2 Tropfen einer 0,1 proc. Methylenblaulösung beim Kochen in weniger als 1 Min., eine Lösung mit 0,01 % Zucker in 2 Min. An der Luft stellt sich die blaue Farbe wieder her. Levulose und Kreatinin reduciren nach Neumann Wender[5]) den Farbstoff ebenfalls, auch das Kreatin, aber erst nach längerem Kochen. Rohrzucker, Harnsäure, Harnstoff sind ohne Einwirkung. Normaler Harn verhält sich wie eine 0,1 proc. Traubenzuckerlösung.

Erwärmt man eine Traubenzuckerlösung mit Natron- oder Kalilauge, bis sie citronengelb geworden ist, tröpfelt dann eine verdünnte Pikrinsäurelösung zu und erhitzt zum Kochen, so färbt sich die Flüssigkeit tief roth (Braun[6]). Kreatinin giebt diese Reaction schon in der Kälte, ebenso Aceton, aber schwach, Harnsäure in der Wärme (Jaffé).

Mit kohlensaurem Natron übersättigte Lösung von Indigschwefelsäure färbt sich beim Kochen mit Traubenzucker grün, purpurroth, roth, gelb, und beim Schütteln der heissen gelben Lösung mit Luft in umgekehrter Reihenfolge der Farben wieder blau. Da das kohlensaure Natron in der Wärme zerlegend auf die Indiglösung einwirkt, so wird die Reaction empfindlicher, wenn man eine wässrige Lösung mit dem Zucker zuerst erhitzt und die heisse Flüssigkeit mit wenig kohlensaurem Natron alkalisch macht (Mulder[7]).

Orthonitrophenylpropiolsäure liefert beim Kochen mit wenig Traubenzucker und kohlensaurem Natron Indigo, ein Ueberschuss von Zucker führt den Indigo in Indigweiss über (Baeyer). Indoxyl und Indoxylsäure geben die Reaction auch; normaler Harn gleichfalls, aber nur schwach (Heckenhayn, G. Hoppe-Seyler[8]).

---

1) Baeyer, Ann. d. Chemie **245**. 149.

2) O. Maschke, Ztschr. f. analyt. Ch. **16**. 428. 1877.

3) J. G. Gentele, Chem. Centralbl. 1859. 504.

4) L. Crismer, Ann. de la Soc. méd.-chir. de Liége, Oct. 1888; Chem. Centralbl. 1888. 1510.

5) Ihl, Chemiker-Zeitung **12**. 25; Ztschr. f. analyt. Ch. **29**. 368. — Herzfeld, Deutsche Zuckerindustrie **13**. 234; Ztschr. f. analyt. Ch. a. a. O. — Neumann Wender, Pharm. Post **26**. 393; Ztschr. f. analyt. Ch. **33**. 118.

6) C. D. Braun, Journ. f. prakt. Chem. **96**. 412. 1865.

7) E. Mulder, Arch. f. d. holländ. Beiträge **2**. 44. 1861; **3**. 186. 1862.

8) A. Baeyer, Ber. d. chem. Gesellsch. **13**. 2260. 1880. — H. Heckenhayn, Ueber das Vorkommen reduzirender Substanzen im Harn. Diss. Erlangen 1887. — G. Hoppe-Seyler, Ztschr. f. physiol. Ch. **17**. 83. 1892.

g. Von den Farben(Furfurol-)Reactionen (S. 67) giebt der Traubenzucker die mit α-Naphtol, Thymol und Xylidin, dagegen nicht die mit Phloroglucin und Orcin, und die mit Resorcin nur unter Anwendung von Oxydationsmitteln.

h. Diazobenzolsulfosäure bewirkt nach Penzoldt und Fischer in einer mit fixem Alkali alkalisch gemachten Zuckerlösung in 10—15 Min. eine Rothfärbung, welche allmählich einen violetten Ton annimmt. Die Lösung zeigt dann nach Petri[1]) bei geeigneter Verdünnung ein Absorptionsband zwischen D und F und ein zweites bei G. Der Farbstoff verschwindet bei langem Stehen und beim Neutralisiren. Uebersättigen der Flüssigkeit mit einer Mineralsäure verleiht ihr nach Petri einen anderen rothen Ton als vorher und die Absorption beginnt mehr rechts von D.

Acetaldehyd giebt dieselbe Färbung. Aceton wird dunkelroth, ebenso bei Gegenwart überschüssigen Alkalis Phenol und Brenzkatechin. Bei den beständigeren aromatischen Aldehyden tritt die Reaction erst auf Zusatz von Natriumamalgam ein. Durch Natriumamalgam wird die Reduction bei Zucker sehr beschleunigt und verstärkt. Reductionsmittel entfärben nach Petri die fuchsinrothe Lösung bei Luftabschluss. Die Eiweisskörper verhalten sich nach Petri gegen das Reagens ganz wie der Zucker.

i. Traubenzucker büsst nach Wohl[2]) bei kurzem Erwärmen mit selbst verdünnter Säure (Salzsäure) durch Bildung von Isomaltose an Drehungsvermögen (Reversion) und Reductionsfähigkeit ein; bei längerem Erhitzen mit verdünnter Salzsäure (S. 81) liefert er Levulinsäure $C_5H_8O_3$, Ameisensäure, Kohlensäure, wenig Furfurol und viel kohlenartige Huminkörper; durch concentrirte Schwefelsäure färbt er sich erst bei längerer Einwirkung schwarz.

k. Durch niedere pflanzliche Organismen erleidet der Traubenzucker eigenthümliche Veränderungen, deren Producte je nach der Art der Organismen verschieden sind.

Durch Bierhefe wird der Zucker in neutraler oder sehr schwach saurer (entsprechend 0,02 % Schwefelsäure, Hayduck) und salzarmer Lösung in Alkohol und Kohlensäure zerlegt. Diese Gährung verläuft in der Hauptsache nach



$$C_6H_{12}O_6 = 2\ C_2H_6O + 2\ CO_2,$$

allein nicht genau nach dieser Gleichung, da sich nebenbei noch Glycerin, Bernsteinsäure und andere Körper bilden (Pasteur). Nach der Gleichung sollte Zucker 51,1 % Alkohol und 48,9 % Kohlensäure liefern; bei einer richtig geleiteten Traubenzuckergährung entstehen aber nach Jodlbauer[3]) ausser 3,71 % Glycerin und Bernsteinsäure und 0,94 % unbekannten Stoffen 48,67 % Alkohol und 46,54 % Kohlensäure, die beiden Hauptprodukte noch in demselben Verhältniss (1,045 : 1), wie nach der Gleichung. Gleichfalls nach Jodlbauer's sorgfältigen Versuchen

---

[1]) F. Penzoldt u. E. Fischer, Ber. d. chem. Gesellsch. **16**. 657. 1883. — Petri, Ztschr. f. physiol. Ch. **8**. 293.

[2]) A. Wohl, Ber. d. chem. Gesellsch. **23**. 2092. 1890.

[3]) M. Jodlbauer, Ztschr. des Vereins f. d. Rübenz.-Industrie des deutschen Reichs 1888. 309.

liegt das Temperaturoptimum der Alkoholgährung bei 34°; bei 15° geht sie (ohne Nährlösung) nicht zu Ende und bei 45° findet sie gar nicht statt. 4—8 proc. Zuckerlösungen vergähren schneller als verdünntere oder concentrirtere unter gleichen Verhältnissen. Die Gährung verläuft um so schneller, je mehr Hefe vorhanden ist und umgekehrt, doch ist die Dauer der Gährung der Hefemenge nicht genau umgekehrt proportional; verwendet man auf 1 Gewichtstheil Zucker den gleichen Gewichtstheil frischer teigförmiger Hefe, so läuft bei 34° die Gährung in 9 Stunden ab, mit dem halben Gewicht Hefe in 24 Stunden. Mit frischer, höchstens einen Tag alter Hefe geht die Gährung am Besten vor sich; alte Hefe liefert auch bei vollständiger Vergährung des Zuckers zu wenig Kohlensäure und zwar um so weniger, je älter die Hefe ist. Die richtige Menge Kohlensäure (46,54%) erhält man nur dann, wenn man auf 1 Theil Zucker nicht mehr als 1/2 Theil frische teigförmige Hefe verwendet; bei einem Ueberschuss an Hefe beginnt noch bevor aller Zucker verbraucht ist, die mit Kohlensäureentwickelung verbundene Selbstgährung der Hefe (Entwickelung der Knospen auf Kosten der Mutterzelle) und die Menge der gebildeten Kohlensäure fällt zu gross aus, um so grösser, je länger die Hefe noch in der vergohrenen Flüssigkeit verweilt. Dagegen kann bei Verwendung von 1 Thl Hefe auf 2 Thle Zucker die Gährdauer überschritten werden, ohne dass eine Ueberproduktion von Kohlensäure eintritt, namentlich unter Luftabschluss (in einer Wasserstoffatmosphäre), weil dabei die Hefe nicht wächst.

Nach Hedin[1]) liefert Presshefe grössere und wechselnde Mengen Kohlensäure als gewaschene Hefe. Durch wiederholtes Waschen sinkt die Kohlensäure auf eine constante untere Grenze, einschliesslich der gelösten = 41,51% des vergohrenen Zuckers. Salmiak, Harnstoff, Leucin, Pepton vermehren die Menge der Kohlensäure, auch salicylsaures Natron (1 : 4000). In Harn verläuft die Gährung etwas schneller und unter Produktion einer grösseren Menge Kohlensäure.

Auch Kefyr vergährt den Traubenzucker (Lemaire[2]).

Die käufliche Bierhefe ist nicht rein, sondern enthält noch Mikroben. Für Gährungsversuche ist nun die Thatsache von Wichtigkeit, dass die Thätigkeit der Mikroben, ohne wesentliche Schädigung der Alkoholgährung nach Effront durch einen Zusatz von Flusssäure oder eines Fluorids unterdrückt werden kann. Ein Zusatz von 200—300 mg Ammonfluorid zu 100 cc gährungsfähiger Flüssigkeit vernichtet die Sporen der Milchsäure- und der Buttersäuregährung und behindert zugleich die Alkoholgährung. Aber die Hefe bleibt in einer solchen Flüssigkeit monatelang lebensfähig und bewirkt in einer reinen oder fluoridärmeren (z. B. mit 50 mg Ammonfluorid auf 100 cc) noch die Alkoholgährung, während die anderen Fermente nicht zur Entwicklung gelangen. Auf diese Weise lässt sich also eine Hefe rein züchten. Zur Vernichtung der Mikroben im Harn ist aber nach Arthus und Huber[3]) ein Zusatz von 1% Natriumfluorid nöthig oder, da ein Theil des Fluors durch den Kalk gefällt wird, ein Zusatz von 1% Natriumoxalat und 0,6% Fluornatrium. In einem solchen Harn würde die Bierhefe nicht mehr oder doch nur schlecht wachsen. Es empfiehlt sich also durch Kochen sterilisirten Harn und durch Verweilen in einer Fluoridlösung von Mikroben befreite Hefe zu verwenden, wo es darauf ankommt, die Mikrobenwirkung (z. B. beim Nachweis gährungsunfähiger Zucker) auszuschliessen.

Milchsäurehefe verwandelt den Traubenzucker in Milchsäure; die Milchsäuregährung tritt nach Cazeneuve[4]) in zuckerhaltigem Harn ein, wenn dessen Harnstoff in kohlensaures Ammon übergegangen ist. — Durch Buttersäurehefe wird der Zucker in Buttersäure übergeführt; in ähnlicher Weise können aus

---

1) S. G. Hedin, Lunds Universitets årsskrift **27**; Jahresber. f. Thierch. 1890. 37.

2) Lemaire, Ztschr. f physiol. Ch. **21**. 456.

3) J. Effront, Bull. de la Soc. chim. [3] **4**. 337. 1890; Moniteur scientif. **5**. 1137; Chem. Centralbl. 1892. **1**. 248 u. anderwärts. — Arthus u. Huber, Arch. de physiol. norm. et pathol. 1892. 655.

4) Cazeneuve, Ber. d. chem. Gesellsch. **13**. 1880.

dem Zucker des diabetischen Harns auch andere Fettsäuren (Essigsäure etc.) entstehen. — Nach Boutroux[1]) verwandelt Mycoderma aceti den Traubenzucker in eine Säure, welche mit der Gluconsäure von Hlasiwetz und Habermann $C_6H_{12}O_7$ identisch zu sein scheint.

C. *Darstellung* 1. grösserer Mengen Traubenzucker aus Harn. Zuckerreicher diabetischer Harn wird mit Barytwasser und Chlorbaryum ausgefällt und mit Schwefelsäure schwach angesäuert, oder mit essigsaurem Blei gefällt und das Filtrat mit Schwefelwasserstoff von überschüssigem Blei befreit, dann im Wasserbad zu einem dünnen Syrup eingedampft und dieser mit Alkohol übergossen der Krystallisation überlassen. Die ausgeschiedenen Krystalle werden zerrieben, mit absolutem Alkohol oder mit reinem wasserfreien Methylalkohol ausgewaschen und am Besten aus Methylalkohol umkrystallisirt. Man erhält dabei nach einander wasserfreien Traubenzucker, Traubenzucker-Chlornatrium, beide in schönen Krystallen, und Traubenzuckerhydrat (Huppert).

Aus Rohrzucker kann man völlig reinen wasserfreien Traubenzucker in einfacher Weise nach einem von Soxhlet[2]) angegebenen Verfahren gewinnen.

2. Isolirung kleiner Mengen Traubenzucker aus Harn zum Zwecke des Nachweises. Man hat dabei das Eindampfen des Harns möglichst zu vermeiden, weil sich der Zucker beim Eindampfen zersetzt und kleine Mengen Zucker ganz verloren gehen können.

a. Als Zuckerkali (B. 4. b; S. 96). Man extrahirt eingedampften Harn mit 90proc. Alkohol oder man versetzt nach Brücke frischen Harn bis zu 80 Volumenproc. mit starkem Alkohol, fügt dem Filtrat eine alkalische Kalilösung zu und spült den entstandenen Niederschlag mit Alkohol ab. Nach dem ersten Verfahren erhält man syrupöses Zuckerkali, nach dem Verfahren von Brücke einen fast blos krystallinischen, grossentheils aus Uraten und anderen Substanzen bestehenden Niederschlag. Er kann in Wasser gelöst und sofort zu Reactionen verwendet werden; oder man löst ihn nach Leconte[3]) in wenig Wasser, fällt das Kali durch Zusatz von Weinsäure als saures weinsaures Kali aus, neutralisirt das Filtrat durch Digestion mit kohlensaurem Kalk in der Kälte und filtrirt. Das Filtrat kann man nochmals eindampfen, den Rückstand mit Alkohol ausziehen und die Lösung der Krystallisation überlassen.

Der rohe (harnsäurehaltige) Kaliniederschlag aus normalem Harn giebt oft sehr schön die Trommer'sche Probe; von Zucker, welcher normalem Harn zugesetzt wird, findet man in dem rohen Niederschlag etwa die Hälfte wieder (Huppert).

b. Als Bleisaccharat (B. 4. d; S. 96). Der Harn wird nach Brücke zuerst mit Bleizucker und darauf mit Bleiessig ausgefällt, nach Abeles[4]) mit

[1]) L. Boutroux, Comptes rendus **91**. 236; Ber. d. chem. Gesellsch. **13**. 1880.

[2]) Soxhlet, Journ. f. prakt. Ch. [2] **21**. 242. 1880.

[3]) Brücke, Sitzungsber. d. k. Akad. zu Wien, mathem. naturw. Cl. **29**. 346. 1858. — Leconte, Journ. de la Physiol. **2**. 599. 1857.

[4]) Brücke, Wiener med. Wochenschr. 19. 20. 1858; Wiener Sitzungsber. **39**. 15. 1860. — M. Abeles, Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1879. 387.

einer heissgesättigten Chlorbleilösung. Das Filtrat wird darauf in beiden Fällen mit Ammoniak versetzt (bei Verwendung von Chlorblei nach nochmaligem Zusatz von solchem), der entstandene Niederschlag mit Wasser gewaschen und entweder mit Oxalsäure (Brücke) oder Schwefelsäure (Abeles) oder (nach Abeles unter Alkohol) mit Schwefelwasserstoff zersetzt; die überschüssig zugesetzte Oxalsäure wird durch Digestion der Lösung mit kohlensaurem Kalk, die Schwefelsäure durch conc. Bleizuckerlösung entfernt. Es wird nicht aller zu Harn zugesetzter Zucker wiedergewonnen (2/3 nach Bence Jones und weniger nach Abeles). Der Niederschlag enthält auch Indoxylschwefelsäure.

c. Als Traubenzucker-Kupferhydrat (B. 4. c; S. 96). Salkowski[1]) vermischt 20 cc Harn mit 10 cc 1,6 normaler Kupfervitriollösung (mit 199,52 g Kupfervitriol im Ltr.) und 17,6 cc Normalnatronlauge, verdünnt nach 20—25 Minuten mit 100 cc Wasser und filtrirt; es ist 1,1 mal so viel Lauge erforderlich, als das Kupfersalz verlangt, zum Theil wohl wegen der sauren Reaction. Wenn die Flüssigkeit abgetropft ist, wird das Filter sofort auf Fliesspapier von dem Rest Flüssigkeit vollends befreit, dann der Niederschlag in 50 cc verdünnter Salzsäure (1 Volumen Salzsäure von 1,12 Dichte auf 10 Volumen) gelöst, das Kupfer mit Schwefelwasserstoff entfernt, das Filtrat genau mit kohlensaurem Natron neutralisirt und auf 20 cc eingedampft. — Auch normaler Harn liefert nach meiner Erfahrung ein stark reducirendes harnsäurereiches Filtrat.

d. Die Abscheidung des Zuckers als Benzoësäureester S. 97.

e. Als Phenylglucosazon (B. 4. g; S. 98). Es werden 50 cc Harn mit einer Lösung von 1—2 g salzsaurem Phenylhydrazin und der 1½—2 fachen Menge essigsaurem Natron ½ Stunde auf dem Wasserbad erwärmt und auf diesem erkalten gelassen, wobei sich das Phenylglucosazon krystallinisch, meist mit amorphen Massen oder auch ganz amorph abscheidet. Einen amorphen Niederschlag filtrirt man ab, löst ihn auf dem Filter durch Uebergiessen mit heissem Alkohol, versetzt das Filtrat mit Wasser und kocht den Alkohol weg, oder reinigt ihn nach einer der S. 99 gegebenen Vorschriften. Man erhält noch reichlich Krystalle, wenn der Harn im Liter nur 0,5 g und selbst weniger (0,3 g) Zucker enthält, nach Bond noch bei einem Gehalt von 0,25 g Zucker, nach Grocco sogar noch bei 0,01 g im Liter. Ein geringer Eiweissgehalt stört nach v. Jaksch[2]) die Probe nicht, viel Eiweiss muss vorher entfernt werden.

Diese Vorschrift ist in mehrfacher Weise abgeändert worden.

Steht reines Phenylhydrazin zur Verfügung, so setzt man dem Harn nach E. Fischer[3]) eine gleiche Anzahl (10—20) Tropfen von der Basis und von 50 proc. Essigsäure zu.

v. Jaksch versetzt 6—8 cc Harn in einem Reagensglas mit 2 Messerspitzen salzsaurem Phenylhydrazin und 3 Messerspitzen Natriumacetat, lässt das Glas ½—1 St. in siedendem Wasser und kühlt es in kaltem Wasser ab. — Roos erwärmt 10 cc Harn mit 0,5 g salzsaurem Phenylhydrazin und 1 g Natriumacetat 1 St. im Wasserbad und lässt die Probe bis zum nächsten Tag stehen. — Frank verdünnt 5 cc Harn auf das Doppelte, behandelt mit ebenso viel Reagentien wie Roos, lässt 20 Min. in Siedehitze und 3—4 St. bei Zimmertemperatur stehen. — Baisch verwendet auf 1 g Zucker 7 cc Phenylhydrazin, 20 cc Natriumacetatlösung von 25% und 50 cc Essigsäure und lässt die Probe erkalten, sobald sie sich zu trüben beginnt; es fällt dann reines Osazon aus. Bei weiterem Erwärmen des

---

1) Salkowski, Ztschr. f. physiol. Ch. 3. 96. 1879; Ztschr. f. analyt. Ch. 18. 634.

2) A. K. Bond, Amer. med. news, 6. August 1887; Virchow-Hirsch's Jahresb. 1887. 1. 253. — P. Grocco, Annali di chim. appl. alla farm. 79. 258; Ztschr. f. analyt. Ch. 24. 478. — v. Jaksch, Ztschr. f. klin. Med. 11. 20. 1886.

3) E. Fischer, Berichte d. chem. Gesellsch. 22. 90. 1889.

Filtrats mengen sich den Krystallen amorphe Substanzen bei. — Auch Binet[1]) bedient sich des Zusatzes der Essigsäure, weil diese die Ausscheidung des Osazons befördert, behandelt aber ausserdem den Harn mit Bleizucker. Er versetzt 10 cc Harn mit einigen Tropfen Bleizucker, das Filtrat mit 5—6 Tropfen Essigsäure, 1 g Natriumacetat und 0,4—0,5 g salzsaurem Phenylhydrazin, erwärmt 1 St. auf dem Wasserbad und untersucht erst den nächsten Tag. Aus einer 0,02 proc., selbst einer nur halb so starken, Lösung werden nach ihm so noch Osazonkrystalle erhalten. Auch Andere fällen den Harn mit Bleiacetat aus; Roos hat aber keinen Vortheil davon wahrgenommen.

Die Ausscheidung des Osazons ist eine unvollständige, und um die Ausbeute bis zu der durch die Löslichkeit des Osazons bedingten Grenze zu steigern, ist nach Laves[2]) das Phenylhydrazin in grossem Ueberschuss anzuwenden. Bei 0,1 g Traubenzucker in 50 cc Harn wurde dieses Resultat erst durch Zusatz von 3 g Phenylhydrazin und 5 g Eisessig erreicht. Ein Zusatz von 20 Tropfen Phenylhydrazin und 3 g Eisessig genügen aber sowohl bei hohem Zuckergehalt als auch bis herab zu 0,1 % für den Nachweis, nur ist bei der Untersuchung sehr zuckerarmer Harne (0,02 %) nicht weniger als 40—50 cc Harn zu verwenden. Laves erhitzt $1^1/_2$ St. im Wasserbad.

Ein ganz abweichendes noch nicht weiter erprobtes Verfahren wendet Schwarz[3]) an. Es werden 10 cc Harn mit 1—2 cc Bleiessig versetzt und vom Filtrat 5 cc mit 5 cc Normalkalilauge und 1—2 Tropfen Phenylhydrazin kräftig gekocht. Bei Gegenwart von Zucker trete eine citronen- oder orangegelbe Färbung ein und nach dem Uebersättigen mit Essigsäure erfolge sogleich Trübung und Abscheidung eines gelben Niederschlags.

f. Mittelst Thierkohle (B. 2; S. 95), nach Seegen. Man filtrirt Harn, wenn nöthig wiederholt, durch Thierkohle bis zur Entfärbung, wäscht die Kohle mit wenig Wasser nach und verwendet dieses zu den Reactionen. Man macht ein Grübchen in der auf dem Filter befindlichen Kohle und giesst in dieses den Harn. Nur sehr gut ausgewaschene Kohle ist zu dem Versuch geeignet; schlecht ausgewaschene darf auch deshalb nicht verwendet werden, weil sie, worauf Garrod[4]) aufmerksam macht, Substanzen an das Wasser abgeben kann (Eisenoxydulsalze, schwefligsaure Salze), welche für sich Kupferoxyd zu Oxydul reduciren. — Gute Kohle liefert W. Flemming, Chemische Fabrik, Kalk bei Köln.

D. *Nachweis.* Die verschiedenen Methoden sind von sehr ungleichem Werthe. Ueber die Auswahl unter denselben können die Bemerkungen am Schlusse dieses Abschnitts nachgesehen werden.

1 a. Moore-Heller'sche Probe (B. 5. a; S. 100). Man macht den Harn mit Natron- oder Kalilauge stark alkalisch und kocht ihn eine Zeit lang; färbt er sich dabei beträchtlich dunkel, so ist Zucker vorhanden. Diese Probe ist die mindest empfindliche.

Der Niederschlag, welcher sich aus dem alkalisch gemachten Harn namentlich gut nach dem Kochen absetzt, hat mit der Reaction Nichts zu thun, er besteht aus normalen Erdalkaliphosphaten (S. 32). Die Verdunkelung muss eine

---

1) v. Jaksch, a. a. O. und Klinische Diagnostik, 4. Aufl. 1896. 375. — E. Roos, Ztschr. f. physiol. Ch. **15**. 528. 1891. — Frank, Berliner klin. Wochenschr. 11. 1893. 255; Ztschr. f. analyt. Ch. **32**. 634. — Baisch, Ztschr. f. physiol. Ch. **19**. 349. 1894. — P. Binet, Revue méd. de la Suisse rom. **12**. 67; Jahresb. f. Thierch. 1892. 506.

2) E. Laves, Arch. d. Pharm. **231**. 366; Ztschr. f. analyt. Ch. **33**. 117 u. 227.

3) C. Schwarz, Pharm. Ztg. **33**. 465; Chem. Centralbl. 1888. 1187.

4) A. B. Garrod, Brit. med. Journ. 1857. 278.

sehr deutliche sein, wenn sie Etwas beweisen soll, da sich auch normaler Harn bei dieser Probe ein wenig dunkler färbt. Mucinreicher Harn verhält sich wie ein schwach zuckerhaltiger. In einem Harn, welcher (aus zersetztem Harnstoff stammendes) kohlensaures Ammon enthält, setzt sich das hinzugefügte Alkalihydrat mit diesem zunächst zu Ammoniak und kohlensaurem Alkali um und erst wenn alles Ammoncarbonat in dieser Weise zerlegt ist, enthält der Harn Alkalihydrat. Ammoniak und Alkalicarbonat geben die Probe aber nur in ungenügender Weise. Man muss also zu solchem Harn, wenn die Reaction ausbleibt, wiederholt viel Alkalihydrat hinzufügen und kochen, ehe man entscheiden kann, ob Zucker zugegen ist oder nicht.

1b. Eine Abart dieser Probe ist die von Rubner (B. 5. a; S. 100). Man fällt den Harn mit concentrirter Bleizuckerlösung im Ueberschuss aus, versetzt das Filtrat vorsichtig mit Ammoniak, so dass ein flockiger Niederschlag von Bleisaccharat entsteht und kocht; bei Gegenwart von Zucker färbt sich der Niederschlag fleischfarben bis rosenroth. Normaler Harn giebt die Reaction nicht, zuckerhaltiger deutlich noch bis zu 0,1 %. Erwärmt man die Probe nur bis 80°, so tritt die Rothfärbung nach E. Voit und nach Berberoff[1]) nur mit Traubenzucker ein, aber nicht mit Milchzucker (und anderen Biosen). Harn von einer grösseren Dichte als 1,010 muss nach Rubner vorher verdünnt werden. Ein Ueberschuss von Ammoniak verdirbt die Probe.

Die Probe ist dadurch erschwert, dass der Harn Stoffe enthält, welche durch Bleizucker und Ammoniak auch gefällt werden; man ist deshalb unsicher, wieviel Ammoniak anzuwenden ist. Nach E. Voit soll man daher die Mischung des Harns mit dem halben Vol. Bleizucker sogleich mit 0,1 Vol. Ammoniak versetzen, das Filtrat erhitzen und der heissen Flüssigkeit noch einmal Ammoniak hinzufügen. Die Flüssigkeit wird dann schon vor dem Sieden roth.

Nach Rubner kann man auch so verfahren, dass man in 10 cc Harn 3 g Bleizucker durch Kochen auflöst, das Filtrat noch heiss mit wenig Ammoniak versetzt und kräftig kocht. — Moritz[2]) stellt die Probe in der Weise an, dass er zu 20 cc Harn 4 cc concentrirte Bleizuckerlösung setzt, dann zu 5 cc des Filtrats 1 g gepulverten Bleizucker und 1—2 Tropfen Ammoniak und nun, ohne zu schütteln, vorsichtig erwärmt. Der an die Oberfläche steigende Antheil des Niederschlags zeigt die Rothfärbung.

2a. Trommer'sche Probe (B. 5. b; S. 101). Der Harn wird mit Natron- oder Kalilauge stark alkalisch gemacht, dann tropfenweise unter kräftigem Schütteln mit einer nicht sehr concentrirten Lösung von schwefelsaurem Kupferoxyd versetzt, bis ein kleiner Rest des entstandenen Kupferhydrats ungelöst bleibt, und erwärmt. Bei Anwesenheit von Zucker scheidet sich schon unterhalb der Siedehitze gelbes oder rothes Oxydul aus, welches mit dem Strom der warmen Flüssigkeit aufsteigt und sich an der Oberfläche ausbreitet, weshalb am Leichtesten dort zuerst das Oxydul wahrgenommen wird. Man unter-

---

[1]) E. Voit, Sitzungsber. d. Gesellsch. f. Morphol. u. Physiol. in München 5. 66; Jahresb. f. Thierch. 1890. 186. — L. Berberoff, Diss. St. Petersburg 1893; Jahresb. f. Thierch. 1893. 570.

[2]) F. Moritz, Achiv f. klin. Med. 46. 265. 1890.

bricht dann das Erwärmen; die Reduction schreitet bei dieser Temperatur von selbst schnell fort.

Das Vermögen eines alkalisch gemachten Harns, Kupferhydrat zu lösen, ist noch kein Beweis dafür, dass er Zucker enthält. Auch normaler Harn löst es, und zwar in um so grösserer Menge, je mehr er Ammonsalze enthält; stark ammoniakalischer Harn (nach Zersetzung des Harnstoffs zu kohlensaurem Ammon) löst Kupferhydrat zu einer tief blauen Flüssigkeit; auch ist zu beachten, dass starke Natronlauge allein Kupferhydrat auflöst. Bei richtiger Anstellung der Probe nimmt aber frischer normaler Harn nur so viel Kupferhydrat auf, dass er sich grün, nicht blau, färbt. Beim Kochen entfärbt sich eine aus normalem Harn bereitete Probe und bleibt entweder klar, weil das gebildete Kupferoxydul von dem ursprünglich im Harn enthaltenen Ammoniak und von den aus Harnstoff und Kreatinin gebildeten ammoniakalischen Produkten in Lösung erhalten wird; oder er zeigt einen eigenthümlichen graugrünen Schiller, nach Worm-Müller auch dann, wenn der Harn vorher mit Hefe behandelt war. Diese feine trübende Substanz besteht, worauf Balke zuerst aufmerksam gemacht hat, aus den Kupferoxydulverbindungen der Xanthinbasen und etwa noch unveränderter Harnsäure. Das durch Reduction mittelst Zucker gebildete Kupferoxydul scheidet sich nach Jastrowitz[1]) krystallinisch ab (in Oktaedern, Tetraedern, Würfeln, Prismen, besonders häufig in concentrisch geschichteten Kugeln), während die Kupferoxydulverbindungen der Xanthinbasen amorph sind. Concentrirte normale Harne setzen beim Stehen einen gelben, dem Kupferoxydulhydrat ähnlichen, oder einen grünlich grauen Niederschlag ab. Kocht man den Harn mit Fehling'scher Flüssigkeit, so lehrt schon der Augenschein, dass er viel mehr Kupferhydrat reducirt, als er ohne die Mithilfe des weinsauren Salzes lösen kann. Vergl. hierüber S. 72. Normaler Harn zeigt auch das von Worm-Müller[2]) hervorgehobene eigenthümliche Verhalten, dass sich eine geringe Menge von blos suspendirtem Kupferhydrat nicht schwärzt (vergl. thier. Gummi, diesen §, III. B. 4).

Ein kleiner Ueberschuss Kupferhydrat, welchen man bei der oben angegebenen Versuchsanordnung der Flüssigkeit hinzufügt, stört nicht, denn dieses Kupferhydrat wird auch reducirt, weil man auf diese Weise nicht so viel Kupferhydrat in Lösung bringt, als der vorhandene Zucker zu lösen vermag. Der Ueberschuss von Zucker giebt dann beim Kochen die Moore-Heller'sche Probe und das Kupferoxydul erscheint dann in der braunen Flüssigkeit kupferroth.

Stark ammoniakalischer Harn kann alles gebildete Kupferoxydul in Lösung erhalten, so dass er sich zwar entfärbt, aber während des Kochens klar bleibt. Dennoch ist auch diese Reaction für die Anwesenheit von Zucker beweisend, wenn die Probe vor dem Erwärmen dunkelblau war; der Harn hat dann ein grosses Reductionsvermögen besessen. Es gelingt unter solchen Verhältnissen oft noch, das Oxydul zur Ausscheidung zu bringen, wenn man den Harn vor dem Erhitzen mit Kupferhydrat sättigt, wie oben angegeben, oder wenn man das Erwärmen zur Verjagung des Ammoniaks längere Zeit fortsetzt, oder den Harn stark abkühlt oder endlich ihn nach dem Kochen stark verdünnt. Der bereits gekochten Probe nachträglich noch Kupfervitriol zuzusetzen, führt nicht zum Ziele, weil der Zucker durch die Lauge bereits zerstört worden ist. Eiweiss verhindert die Ausscheidung des Oxyduls gleichfalls; enthält der Harn grössere Mengen davon, so muss man es vorher entfernen. Kleinere Mengen Eiweiss beeinträchtigen die Probe nicht merklich.

Mit Fehling'scher Flüssigkeit kann man einen Ueberschuss von Kupferhydrat in die Flüssigkeit bringen, wobei jedoch nicht zu vergessen ist, dass jeder normale Harn in nicht unbedeutendem Grade reducirt. Biltz hat vorgeschlagen, schwach blaue Fehling'sche Flüssigkeit mit Kochsalz zu sättigen, sie zum Kochen zu erhitzen und unmittelbar darauf den Harn auf die Flüssigkeit zu schichten,

---

1) Worm-Müller, Pflüger's Archiv 27. 94. 1882. — P. Balke, Journ. f. prakt. Ch. [2] 47. 556. 1893. — M. Jastrowitz, Deutsche med. Wochenschr. 1891. 253 u. 292; Ztschr. f. analyt. Ch. 30. 751.

2) Worm-Müller, a. a. O. 89.

worauf in der Grenzzone die Oxydulausscheidung vor sich geht. Lépine[1]) überschichtet, um Spuren Zucker noch nachzuweisen, 4 cc erwärmte gewöhnliche Fehling'sche Lösung mit 10—20 cc gleichfalls erwärmten Harns. Diese Modificationen haben keinen wesentlichen Vorzug, sondern eher den Nachtheil, dass man die kleinen Mengen Oxydul, welche sich überhaupt bilden können, ganz übersehen kann.

Zeehuisen[2]) empfiehlt, den Harn vor der Probe auf das 5—10fache (auf die Dichte von 1,005 und darunter) zu verdünnen und 5 cc solchen Harns mit nur 2 cc Fehling'scher Lösung zu erwärmen; nach ihm giebt normaler Harn dann keinen Kupferoxydulniederschlag, zuckerarmer aber in der Regel.

In diabetischen Harnen mit normalem Ammoniakgehalt bekommt man, je nach der Concentration des Harns, noch bei 0,25—0,5 % Ausscheidung von Kupferoxydul (Huppert), mit dem Barfoed'schen Reagens (B. 5. c; S. 105) nach Hofmeister[3]) noch bei 0,5 % Zucker.

Nach der Einverleibung gewisser Substanzen ist das normale Reductionsvermögen des Harns erhöht, ohne dass der reducirende Stoff die übrigen Eigenschaften eines Zuckers besitzt, so nach grossen Dosen von Benzoësäure (Salkowski), Salicylsäure (Byasson, v. Jaksch), Oxalsäure, nach Terpentinöl (Almén, Pontin und Malmsten, Schmiedeberg, Vetlesen, Külz), Copaivabalsam (Quincke), Rheum (Grigge), Sulfonal (Lafon), Chloroform (Kast), Acetphenetidin (Müller), Glycerin, sowie nach Vergiftung mit Kalilauge, Schwefelsäure, Arsen (v. Jaksch). Nach der Einführung von Terpentinöl gohr der Harn auch mit Hefe (Vetlesen). Die Chrysophansäure, welche nach dem Gebrauch von Rheum reducirt, lässt sich aus dem Harn durch Bleiessig entfernen. — Saccharin erschwert nach Torsellini[4]) die Reduction.

Um die Störungen der Trommer'schen Probe durch andere Harnbestandtheile zu beseitigen, sind verschiedene Vorschläge gemacht worden.

2b. Nach St. Johnson[5]) soll man alle reducirenden Substanzen, ausser dem Zucker, aus dem Harn als Quecksilberoxydverbindungen entfernen können.

Der Harn wird mit $^1/_{20}$ Vol. kalt gesättigter Lösung von essigsaurem Natron und $^1/_4$ Vol. gleichfalls kalt gesättigter Sublimatlösung versetzt und nach 48 Stunden der die Harnsäure und das Kreatinin enthaltende Niederschlag abfiltrirt. Schneller erfolgt die Abscheidung, wenn man den Harn mit 0,05 Vol. Natriumacetat und 0.95 Vol. Sublimatlösung versetzt und das Filtrat 5 Min. lang kocht. Entfernt man das überschüssige Quecksilberoxyd aus den Filtraten durch vorsichtigen Zusatz von

---

1) Biltz, Ztschr. f. analyt. Ch. **16**. 247. 1877. — R. Lépine, Semaine méd. 1892; Centralbl. f. klin. Med. **14**. 413. 1893.

2) H. Zeehuisen, Ztschr. f. klin. Med. **27**. 184. 1895.

3) F. Hofmeister, Ztschr. f. physiol. Ch. **1**. 110. 1877/78.

4) Salkowski, Ztschr. f. physiol. Ch. **1**. 25; **4**. 135. — Byasson, Jahresb. f. Thierch. 1877. 237. — v. Jaksch, Klin. Diagnostik. 4. Aufl. 1896. 483. — Almén, Ztschr. f. analyt. Ch. **10**. 125. — Pontin u. Malmsten, Hygiea 1870; Virchow-Hirsch's Jahresb. 1871. **2**. 287. — Schmiedeberg, Arch. f. exper. Pathol. **14**. 308. 1881. — H. J. Vetlesen, Pflüger's Archiv **28**. 478. 1882. — E. Külz, Ztschr. f. Biologie **27**. 254. 1890. — H. Quincke, Archiv f. exper. Pathol. **17**. 277. 1883. — G. Grigge, Boll. chim. farm. 1895. 609; Chem. Centralbl. 1895. **2**. 322. — Ph. Lafon, Comptes rendus **120**. 933. — Kast, Berliner klin. Wochenschr. 1888. 377. — Müller, Therap. Monatshefte, August 1888. — v. Jaksch, Ztschr. f. klin. Med. **11**. 22. 1886. — D. Torsellini, Ann. di chim. e di farm. [4] **10**. 137; Jahresb. f. Thierch. 1889. 226.

5) Stillingfleet Johnson, Proc. of the London Roy. Soc. **42**. 365; Chem. News **55**. 304. 1887; **66**. 91; Pharm. Journ. and Transact. **54**. 24 u. 603; Chem. Centralbl. 1892. **2**. 536; 1894. **2**. 453; 1895. **1**. 513.

Ammoniak, so ist nach Johnson bei beiden Fällungsweisen in normalem Harn kein Zucker mehr nachweisbar. Scheidet man aber das Quecksilber aus dem Filtrat der in der Kälte ausgefällten Flüssigkeit mit Schwefelwasserstoff ab und kocht den Schwefelwasserstoff weg, so reducirt dann die Flüssigkeit nach meiner Erfahrung schöner als der ursprüngliche Harn.

2c. Buchner[1]) kocht den natürlich sauren Harn mit Kupfervitriol, filtrirt nach dem Erkalten, versetzt das Filtrat mit Seignettesalz und Natronlauge und kocht nochmals. Erfolgt jetzt eine Ausscheidung von Kupferoxydul, so enthält der Harn Zucker.

Man stellt die Probe nach meinen Erfahrungen am Besten so an, dass man ungefähr 10 cc Harn in einem Schälchen unter Kochen mit so viel Kupfervitriol versetzt, bis sich der entstehende Niederschlag zu Flocken zusammenballt und die Flüssigkeit schwach grün ist. Von Harn mit 0,1 % Zucker erhält man dann beim Kochen mit der alkalischen Kupferlösung noch mit 2,5 cc, von solchem mit 0,025 % Zucker noch mit 5 cc bei anhaltendem Kochen im Reagensglas einen reichlichen sich schnell absetzenden Niederschlag von orangefarbenem Oxydul, der voluminöser ist als das aus einem gleichen Volumen wässriger Zuckerlösung der gleichen Concentration ausfallende rothe Oxydul. Die Probe ist aber insofern unsicher, als normaler Harn bei anhaltendem Kochen gleichfalls Oxydul ausscheidet, allerdings nicht sofort, sondern erst nach stundenlangem Stehen. Bei der Probe von Buchner erfolgt die Abscheidung des Oxyduls vielleicht deshalb so langsam, weil das Ammoniak, welches das Kupferoxydul in Lösung hält, erst weggekocht werden muss.

In ähnlicher Weise verfahren Focke sowie Allen[2]). Focke kocht 10 ccHarn mit 5 cc 10proc. Kupfervitriollösung auf, schüttelt das Filtrat mit 2 cc 10proc. Natriumcarbonatlösung und filtrirt nach dem Absitzen des Niederschlags. Allen fügt 7—8 cc eiweissfreiem zum Sieden erhitzten Harn 5 cc einer 10proc. Kupfervitriollösung hinzu und nach dem Erkalten 1—2 cc einer schwach sauren concentrirten Natriumacetatlösung. Der entstehende Niederschlag enthalte neben der Phosphorsäure alle Harnsäure und alle Xanthinbasen. Versetzt man das nach Focke erhaltene Filtrat mit Fehling'scher Lösung, das nach Allen erhaltene (noch kupferhaltige) Filtrat mit Seignettesalzlösung, so entsteht nach kurzem Kochen noch ein Kupferoxydulniederschlag, nach Focke wenn der Harn mehr als 0,05 %, nach Allen wenn er 0,25 % Zucker enthält.

Es ist auch vorgeschlagen worden, das Kreatinin durch Chlorzink, die Harnsäure durch salpetersaures Quecksilberoxyd und Natronlauge (Tanret) zu entfernen, sowie den Harn mit neutralem oder basischem essigsauren Blei auszufällen und das Filtrat zu verwenden. Nach Zeehuisen[3]) betheiligen sich nach dem Fällen des Harns mit Bleizucker und der Verdünnung auf eine Dichte von 1,005 bis 1,010 die normalen Harnbestandtheile an der Reduction der Fehling'schen Lösung nicht mehr.

2d. Entfärben des Harns mit Thierkohle (C. 2 f; S. 112). Beim Filtriren des Harns durch Thierkohle werden die Harnsäure und ihre Salze, und nach Roberts auch das Eiweiss grösstentheils zurückgehalten, ausserdem aber etwas Zucker.

Diesen von der Kohle aufgenommenen Zucker entzieht Seegen der Kohle wieder mit Wasser und stellt mit der Lösung die Trommer'sche Probe an. Nach Seegen's letzter Vorschrift füllt man ein Filter von 5—6 cm Durchmesser 3 cm

---

1) G. Buchner, Chemiker-Ztg. 8. 945. 1884; Berichte d. chem. Gesellsch. 17. Ref. 188.

2) Focke, Apotheker-Ztg. 9. 559; Chem. Centralbl. 1894. 2. 453. — A. H. Allen, The Analyst 19. 178; Chem. Centralbl. a. a. O. 628.

3) H. Zeehuisen, Nederl. Tijdschr. v. Geneesk. 1890. 2. 461; Jahresb. f. Thierch. 1891. 194.

hoch mit Kohle und filtrirt durch diese Schicht 20—40 cc Harn so lang, bis das Filtrat völlig farblos abläuft. Dann wäscht man das Filter 3 mal mit so viel Wasser nach, dass das Filter zur Hälfte gefüllt ist. Jedes der 3 Waschwässer wird gesondert untersucht. Bei Harnen mit 0,1—0,5 % Zucker geben der farblos filtrirte Harn sowohl wie die Waschwässer mit Fehling'scher Flüssigkeit Abscheidung von Kupferoxydul, das Harnfiltrat schon vor dem Sieden. Enthält der Harn nur 0,05—0,01 % Zucker, so giebt der filtrirte Harn und das erste Waschwasser oft erst $^1/_2$—1 Min. nach dem Beginn des Siedens einen gelben Niederschlag, das 2. und 3. gewöhnlich Nichts, bei noch weniger Zucker tritt die Reaction entweder gar nicht ein oder sehr spät. An Harnsäure sehr reichen Harn soll man nach reichlichem Zusatz von Salzsäure zur Abscheidung der Harnsäure 24 St. stehen lassen und dann durch Kohle filtriren; tritt mit Filtrat und Waschwasser Reduction auf, so sei bestimmt Zucker vorhanden. — Worm-Müller schreibt dem Verfahren keine besonderen Vorzüge zu, Roberts[1]) dagegen empfiehlt die Untersuchung des entfärbten Harnfiltrats in Fällen, wo die Gährung und die mit dem Harn selbst angestellte Trommer'sche Probe kein sicheres Resultat geben.

2e. Die Worm-Müller'sche Probe[2]) beruht darauf, dass man die Reaction mit Fehling'scher Lösung bei einer 60—70° nicht übersteigenden Temperatur vor sich gehen lässt, weil bei dieser Temperatur die andern, das Kupferoxyd bei Siedetemperatur gleichfalls reducirenden Substanzen nicht oder doch nicht in hohem Grade zur Wirkung kommen. Man hat ausserdem die für die Reaction geeignetste Menge Kupferhydrat zu ermitteln, weil ein Theil des Oxyduls immer in Lösung bleibt und nur bei einer genügenden Menge von Kupferhydrat Kupferoxydul als Niederschlag auftritt und daher bei Verwendung von zu wenig Kupfersalz die Probe ausbleiben, und weil andererseits bei Verwendung von zu viel Kupferlösung die Erkennung des Oxyduls durch zu starke Färbung der Flüssigkeit erschwert sein kann.

Man braucht zu der Probe eine Kupfersulphatlösung von 2,5 % und eine Lösung von 10 % Seignettesalz und 4 % Natronhydrat oder 5,6 % Kalihydrat. Der Harn soll eiweissfrei sein und wird filtrirt angewendet. Es werden einerseits 5 cc Harn abgemessen, andererseits 2,5 cc der alkalischen Seignetttesalzlösung zunächst mit 1 cc Kupfersulphatlösung gemischt, beide Proben gleichzeitig zum Sieden erhitzt, das Kochen beider gleichzeitig unterbrochen und nach 20—25 Secunden, nicht früher, die Flüssigkeiten zusammengegossen und stehen gelassen. Die Temperatur der Mischung beträgt jetzt 80—85°, sinkt aber bald auf 60° und tiefer, so dass nach Worm-Müller der Totaleffect derselbe ist, als wenn die Mischung auf 60—70° erwärmt worden wäre. Scheidet sich in längstens 5—10 Min. kein Oxydul aus, so wiederholt man die Probe mit 1,5 cc Kupferlösung und so fort, indem man immer um 0,5 cc Kupferlösung (selten mehr als 4,5 cc im Ganzen) mehr nimmt als vorher, sonst aber Alles unverändert lässt. Das Oxydul bleibt (in Verbindung mit Xanthinbasen und Harnsäure) als schmutzig gelbgrüne Trübung fein suspendirt durch die ganze Flüssigkeit vertheilt und ist am Besten wahrzunehmen, wenn man das gut beleuchtete Glas gegen einen dunklen Hintergrund betrachtet. Ein entstehender Phosphatniederschlag, den man mit Kupferoxydul verwechseln oder der es verdecken könnte, sinkt bald zu Boden. Entfärben des Harns durch Thierkohle verbessert das Verfahren nicht.

---

[1]) Seegen, Wiener klin. Wochenschr. 7. 8. 1892; Jahresb. f. Thierch. 1892. 230. — Worm-Müller, Pflüger's Archiv **27**. 127. 1882. — W. Roberts, The Practitioner **56**. 1; Centralbl. f. d. med. Wissensch. **21**. 365. 1896.

[2]) Worm-Müller, a. a. O. **27**. 112. 1882.

Die Probe gelingt noch, wenn der Harn nur 0,025 % Zucker enthält. Fällt sie negativ aus, so enthält der Harn keinen Zucker oder noch nicht 0,025 %. Eine schwache positive Probe ist jedoch keineswegs absolut beweisend für die Gegenwart von Zucker; denn wenn man solche Harne 24—48 Stunden mit gut ausgewaschener Hefe stehen lässt, verschwindet manchmal die Reductionsfähigkeit nicht. Man hätte also in zweifelhaften Fällen noch diese Controle (durch die Gährung) anzustellen. Von 60 normalen Harnen reducirten 7 deutlich, 8 schwach und in 11 von diesen 15 Fällen verschwand die reducirende Substanz durch Hefe.

3a. Böttger'sche Probe. (B. 5. d; S. 105). Der Harn wird mit Natron- oder Kalilauge alkalisch gemacht, mit einer kleinen Messerspitze basisch salpetersaurem Wismuth oder etwas gelöstem Wismuthsalz versetzt und gekocht; bei Gegenwart von Zucker tritt Schwärzung des ungelöst gebliebenen Wismuthsalzes oder ein schwarzer Niederschlag auf.

Ammonsalze beeinträchtigen die Reaction nur insofern, als Ammoniak statt des Alkalihydrats die Probe nur mangelhaft giebt; man muss mehr Alkalihydrat hinzufügen, als das Ammonsalz zu seiner völligen Zersetzung braucht. Eiweiss muss aus dem Harn vorher entfernt werden.

Brücke[1]) verwendet zur Abscheidung des Eiweisses eine angesäuerte Lösung von Jodwismuthkalium, die zugleich das zum Nachweis des Zuckers dienende Wismuthoxyd liefert. Die Lösung giebt beim Verdünnen einen Niederschlag von Jodwismuth, der also auch eintreten würde, wenn man das Reagens dem Harn zusetzt, der aber durch Ansäuern des Harns verhindert wird; aber ein Ueberschuss von Säure würde den durch das Wismuth erzeugten Eiweissniederschlag wieder lösen. Man ermittelt daher erst an einer Probe Wasser, mit wie viel Tropfen Salzsäure ein gleiches Volumen Harn versetzt werden muss, damit er das Jodwismuth in einem bestimmten Volumen der Reagenslösung gerade noch in Lösung hält, fügt dann einem gleichen Volumen Harn dieselbe Menge Säure und dann das Reagens hinzu. Die Fällung des Eiweisses ist gelungen, wenn der nach einigen Minuten filtrirte Harn weder mit einem Tropfen verdünnter Salzsäure, noch mit einem Tropfen des Reagens einen Niederschlag giebt. Das Filtrat wird dann mit Alkalilauge übersättigt. Ist der Wismuthniederschlag, der dabei entsteht, sehr stark, so lässt man ihn sich absetzen, und giesst mit der überstehenden Flüssigkeit nur einen Theil desselben in ein anderes Glas, in welchem man kocht. Vor der gewöhnlichen Methode, das Eiweiss zu fällen, hat das Jodwismuthkalium das voraus, dass es auch die Albumosen (Pepton) niederschlägt. Auch der Schwefel im Harn etwa schon vorhandenen Schwefelalkalis wird durch das Jodwismuthkalium in der sauren Flüssigkeit als Schwefelwismuth gefällt. — Das Reagens kann nach der Vorschrift von Fron, Kraut oder Bruhns[2]) hergestellt werden.

Zu dem gleichen Zwecke bedient sich Maschke einer Lösung von wolframsauren Natron in Essigsäure (30 Thle wolframsaures Natron, 75 Thle Essigsäure, 120 Thle Wasser). Der Harn wird mit 0,25—0,3 Volumen des Reagens versetzt und filtrirt. Giebt das Filtrat mit dem Reagens nicht auf's Neue einen Niederschlag, so fügt man 0,5 Volumen starke Natronlauge und etwas Wismuthsubnitrat (vom Volumen eines halben Pfefferkorns) zu und schüttelt. Setzt sich das Wismuthsalz bräunlich oder schwärzlich ab, so enthält der Harn Schwefel in der Bindung von Schwefelwasserstoff, den man vorher entfernen muss. Dazu wird eine frische Probe Harn mit Essigsäure und einer Messerspitze Wismuthsalz geschüttelt und das Filtrat dann, wie angegeben, mit Wolframsäure ausgefällt. Beim Kochen mit dem Wismuthsalz kann sogleich Schwärzung eintreten, oder sich, bei

1) Brücke, Sitzungsber. d. k. Akad. d. Wiss. zu Wien. 3. Abth. **72**. 20. 1875.

2) Fron, Chem. Centralbl. 1875. 263. — Kraut, Ann. d. Chemie **210**. 310. 1881. — Bruhns, Ztschr. f. physiol. Ch. **14**. 574. 1890.

Gegenwart von nur wenig Zucker, ein schwarzer Niederschlag erst beim Stehen absetzen. — Werner[1]) empfiehlt dieses Verfahren.

Fast jeder normale Harn schwärzt das Wismuthoxyd; die Substanz ist jedoch kein Zucker, denn sie verschwindet nach Worm-Müller sowie Nylander[2]) nicht, wenn man den Harn vorher 24—48 Stunden mit gewaschener Hefe hat stehen lassen. Die Probe tritt jedoch mit normalem Harn nur dann ein, wenn er mit viel Lauge versetzt wird (Nylander). Dieser Fehler wird bei der Nylander'schen Probe vermieden.

3b. Nylander'sche Probe[3]). Es werden 10 Vol. Harn mit 1 Vol. einer Lösung von 2 g basisch salpetersaurem Wismuth und 4 g Seignettesalz in 100 cc einer Lösung von 8 g Na_2O (10,33 g NaOH) in 100 (Dichte 1,119) anhaltend (2—5 Min.) gekocht. Bei Gegenwart von selbst nur sehr geringen Mengen Zucker entsteht ein schwarzer Niederschlag; auch zuckerreiche Harne müssen lang gekocht werden, ehe die Reaction eintritt.

Zur Bereitung des Reagens erwärmt man die Salze mit der Lauge und filtrirt von dem, was etwa ungelöst bleibt, ab. Die Lösung hält sich unbeschränkte Zeit unverändert. — Die Probe kocht leicht über; um dieses zu vermeiden, kann man das Reagensglas nach Luther[4]) in siedendem Wasser stehen lassen.

Dieses Verfahren zeigt noch 0,04 % Zucker in wässriger Lösung und 0,025 % im Harn an; vermehrt oder vermindert man den Alkaligehalt der Lauge, so büsst das Reagens an Empfindlichkeit ein; dasselbe ist der Fall, wenn man auf 10 Vol. sehr schwacher Zuckerlösung mehr als 1 Vol. der Lösung verwendet; bei stark zuckerhaltigen Flüssigkeiten ist die Menge des Reagens ohne Belang. Eine Eiweisslösung von 0,6 % giebt einen rothbraunen Niederschlag und erst eine solche mit 1—2 % Eiweis einen so schwarzen Niederschlag, dass er mit dem reducirten Wismuth verwechselt werden kann. Wenn sich neben 0,1 % Zucker noch 0,2 % Eiweiss in Lösung befindet, ist die Reaction noch eine gute, bei gleichzeitiger Gegenwart von 0,35 % Eiweiss eine schwache; sind neben 0,1 % Zucker aber 0,45 % Eiweiss vorhanden, so tritt die Reaction nicht mehr ein. Reines Pepton schwärzt nach le Nobel[5]) die Probe nicht.

Bei der Untersuchung von 100 normalen Harnen gaben Nylander 14 Reaction und von diesen wieder 12 die Worm-Müller'sche Probe bestimmt, die anderen 2 aber zweifelhaft. Einer von diesen und 7 von den anderen wurden ein paar Tage mit Hefe stehen gelassen, worauf die Reduction ausblieb. Le Nobel und Salkowski[6]) geben dagegen an, mit normalen Harnen keine Reaction erhalten zu haben.

Harn, der einigermaassen reichlich Ammonsalze enthält, giebt diese Reaction nicht, weil das Natronhydrat gebunden wird und an seine Stelle Ammoniak tritt. (Huppert). — Nach Torsellini[7]) verhindert das Saccharin die Nylander-sche Probe.

---

[1]) O. Maschke, Ztschr. f. analyt. Ch. **16**. 425. 1877. — Werner, Pharmac. Centralhalle **30**. 315; Chem. Centralbl. 1889. **2**. 812.

[2]) Worm-Müller, Pflüger's Archiv **27**. 92. 1882. — E. Nylander, Ztschr. f. physiol. Ch. **8**. 175. 1883/84.

[3]) E. Nylander, Ztschr. f. physiol. Ch. **8**. 175. 1883/84.

[4]) E. Luther, Vorkommen von Kohlenhydraten im normalen Harn. Diss. 1890. 17.

[5]) le Nobel, Centralbl. f. d. med. Wiss. 1887. 678.

[6]) Salkowski, Centralbl. f. d. med. Wiss. 1885. 433.

[7]) D. Torsellini, Ann. di chim. e di farmacol. [4] **10**. 137. — Jahresb. f. Thierch. 1889. 226.

Ein an Uroerythrin reicher Harn kann nach Buchner[1]) die Probe vortäuschen. Bei Gegenwart von viel Uroerythrin ist der Phosphatniederschlag dunkelgrün. Ebenso könnte ein an Haematoporphyrin reicher Harn, wegen der dunklen Färbung des Phosphatniederschlags, zu einer Täuschung Anlass geben.

Die Probe ist vielfach mit zuckerfreiem Harn gelungen. Moritz sah sie wiederholt bei Harnen eintreten, welche vorher mit Hefe behandelt worden waren. Bei der Untersuchung von 261 Harnen Kranker beobachtete sie Kistermann 13 mal, ohne dass die reducirende Substanz durch Gährung zum Verschwinden gebracht werden konnte, und ebenso 6 mal bei der Untersuchung von 25 normalen Harnen. An Indican (Indoxylglykuronsäure) reicher Harn giebt die Probe nach Daiber und nach Glan; nach F. Müller[2]) wird sie mit jedem durch Eindampfen concentrirten Harn erhalten.

Reduction von Wismuthoxyd ist beobachtet worden nach dem Gebrauch von Rheum (Salkowski), Senna (Nagler), Salol (Glan), Benzosol (Süss), Sulfonal und Trional (Glan), Antipyrin (Nagler), Kairin (le Nobel), grossen Dosen Chinin (le Nobel), oder Natriumbenzoat (Salkowski, Mörner), Eucalyptustinktur (le Nobel), Terpentinöl (le Nobel, Vetlesen[3]).

4a. Hoppe-Seyler's Indig-Probe (B. 5. f; S. 107). Es werden 5 cc einer halbprocentigen Lösung von Ortho-Nitrophenylpropiolsäure in überschüssiger Lauge mit 10 Tropfen Harn $^1/_4$ Min. lang gekocht; tritt dabei Blaufärbung ein, so enthält der Harn (mindestens 0,5 $^0/_0$) Zucker.

Zum völligen Auflösen von 5,76 g der Säure verbrauchte Hoppe-Seyler 100 cc 10 proc. Lauge. Der Lösung wird durch Verdünnen mit Wasser die gewünschte Concentration ertheilt. Die rothbraune Flüssigkeit hält sich unverändert. Es werden immer nur 5 cc des Reagens verwendet. Nach Zusatz einer Zuckerlösung (Harn) mit 1,85 mg Zucker trat eine geringe Blaufärbung ein, nach Zusatz von 3 mg eine stärkere und von 4 und 5 mg eine starke. Geben 10 Tropfen (0,5 cc) Harn eine starke Blaufärbung, so enthält der Harn mindestens 0,5 $^0/_0$ Zucker.

Von zuckerfreiem Harn bewirken 10 Tropfen keine deutliche Farbenveränderung; 1 cc (20 Tropfen) eine Grünfärbung und ein deutliches Blau ist auch mit einer grösseren Menge nicht zu erzielen. — Eiweiss stört die Probe nicht; wenn der Harn über 2 $^0/_0$ Eiweiss enthält, so färbt sich die Flüssigkeit (mit 10 Tropfen) dunkelroth. — Ein grosser Ueberschuss an Zucker (an Harn) reducirt das Indigblau weiter zu Indigweiss; aber die rothe Flüssigkeit giebt dann beim Schütteln mit Luft einen blauen Schaum.

4 b. Die Safraninprobe von Crismer (B. 5. f; S. 107). Das Reagens besteht aus 5 cc einer 0,1 proc. Safraninlösung und 2 cc 10 proc. Natronlauge. Tritt beim Kochen desselben mit 1 cc Harn Entfärbung ein, so enthält er Zucker.

---

1) G. Buchner, Münchener med. Wochenschr. 41. 991; Ztschr. f. analyt. Ch. 35. 119.

2) F. Moritz, Arch. f. klin. Med. 46. 266. 1890. — K. Kistermann, daselbst. 50. 423. 1892. — A. Daiber, Corresp. Blatt f. Schweizer Aerzte 24. 38; Jahresb. f. Thierch. 1894. 261; Schweizer Wochenschr. f. Chem. u. Pharm. 33. 229; Chem. Centralbl. 1895. 2. 309. — R. Glan, Deutsche Med. Ztg. 16. 689; Chem. Centralbl. 1895. 2. 694. — F. Müller, Ueber das Vorkommen kleiner Zuckermengen im Harn. Diss. München 1889.

3) Salkowski, Centralbl. f. d. med. Wiss. 1885. 433. — Nagler, Zuverlässigkeit d. Nylander'schen Probe. Diss. München 1886. — Glan a. a. O. — Süss, Pharmac. Centralhalle 36. 522; Chem. Centralbl. 1895. 2. 844. — le Nobel a. a. O. — Salkowski, Ztschr. f. physiol. Ch. 1. 25; 4. 135. — K. H. A. Mörner, Centralbl. f. d. med. Wiss. 1888. 546. — H. J. Vetlesen, Pflüger's Archiv 28. 478. 1882.

5. Die Furfurolprobe (S. 67) hat eine zweifache Bedeutung. Sie kann für sich verwendet werden zur Untersuchung darauf, ob der Zuckergehalt eines Harns pathologisch ist oder sie kann nach Luther [1]) dienen zur Controle anderer zweifelhaft ausgefallener Reactionen.

Nach Luther entspricht der Kohlenhydratgehalt des Harns nach dieser Probe im Mittel einer 0,23 proc. Zuckerlösung, mit den Grenzwerthen 0,08 und 0,60 % (S. 63); die Furfurolreaction tritt aber gerade noch deutlich mit einer Zuckerlösung von 0.02 % (S. 68) ein. Ein normaler Harn wird also, wenn man ihn bis unter diese Grenze verdünnt, die Reaction nicht mehr geben; verdünnt man aber einen Harn, der untersucht werden soll, ebenso stark, und bekommt die Reaction noch, so enthält der Harn mehr Zucker als normal. Posner und Epenstein halten eine 20 fache Verdünnung als die geeignete. — Die Probe lässt sich nach Luther [2]) auch so verwenden, dass man den Harn vor und nach der (24 st.) Behandlung mit (wenig) Hefe untersucht; aus normalem Harn verschwand im Mittel eine 0,1 % Traubenzucker entsprechende Kohlenhydratmenge (0—0,36 %). Der mit Hefe behandelte Harn muss vor Anstellung der Probe filtrirt werden, weil er sonst zu hohe Werthe giebt.

6. Die Phenylhydrazinprobe (C. 2. e; S. 111) hat für den Nachweis eines pathologischen Zuckergehaltes viel an ihrem Werthe eingebüsst, seit man erfahren hat, dass auch normale Harne Krystalle vom Aussehen des Phenylglykosazons liefern können (S. 90).

Ob man Osazon erhält oder nicht, hängt offenbar ab von der relativen Menge des verwendeten Reagens und der Zeit, welche man den Krystallen zur Abscheidung lässt. Da sich hier eine entscheidende Grenze nicht festsetzen lässt, so erscheint diese Probe für den Nachweis pathologischer Zuckermengen nicht mehr für geeignet. Kistermann [3]) deutet zwar die Gewinnung von Osazonkrystallen aus dem 5 fach verdünnten Harn als einen pathologischen Zuckergehalt, aber wohl ohne ausreichenden Grund. Dazu kommt, dass die Probe auch bei zweifelloser Gegenwart von Zucker in einem Harn versagen kann. Die Gestalt und die Anordnung der Krystalle, worauf von einigen Seiten Werth gelegt worden ist, entscheidet Nichts über die Art der im Osazon enthaltenen Substanz.

Alle aus dem Harn erhaltenen, mit Phenylhydrazin gewonnenen Niederschläge ohne Weiteres für Glucosazon anzusehen, ist ungerechtfertigt, da auch andere Harnbestandtheile mit dem Phenylhydrazin unlösliche Verbindungen geben: die Pentosen (und die Glykuronsäure) Osazon, das Aceton (die Acetessigsäure) ein schwer lösliches Hydrazon (S. 57), die Oxalsäure ein schwer lösliches Salz, der Harnstoff in concentrirtem (Hunde-) Harn eine Verbindung mit Phenylhydrazin. Wenn nun auch die Befürchtung einer Verwechslung des Zuckers mit Aceton und mit Oxalsäure eine übertriebene sein dürfte, und die mit Glykuronsäure ausgeschlossen erscheint, da die Gegenwart freier Glykuronsäure im Harn nicht wahrscheinlich ist, die mit Harnstoff, weil der menschliche Harn zu arm daran ist, so kann doch wenigstens eine Verwechslung mit Pentose unterlaufen. Vor derartigen Verwechslungen schützt die Bestimmung des Schmelzpunkts. Das rohe Glucosazon besitzt einen niedreren Schmelzpunkt als das reine, es schmilzt nach Salkowski [4]) statt bei 204° schon bei 173—194°. Die Trennung des Pentosazons vom Glucosazon ist nach Külz und Vogel (S. 88) vorzunehmen.

---

1) Luther, Vorkommen von Kohlenhydraten im normalen Harn. Diss. 1890. 29.

2) C. Posner u. H. Epenstein, Berliner klin. Wochenschr. 8, 26 u. 38. 1891; Jahresber. f. Thierch. 1891. 406. — Luther a. a. O. 53.

3) C. Kistermann, Archiv f. klin. Med. **50**. 423; Ztschr. f. analyt. Ch. 32. 633.

4) Salkowski, Berliner klin. Wochenschr. 17. 1895. 368.

7. Mit Benzoylchlorid (C. 2. d; S. 111 u. 97) lassen sich in jedem normalen Harn Spuren einer wie Zucker reducirenden Substanz nachweisen; die Probe ist daher für das Aufsuchen pathologischer Weise im Harn vorkommenden Zuckers nicht geeignet.

8. Die Gährungsprobe. Man zersetzt Harn mit Bierhefe und schliesst aus den entstehenden Gährungsprodukten, Kohlensäure und Alkohol, auf die Anwesenheit von Zucker (B. 5. k; S. 108).

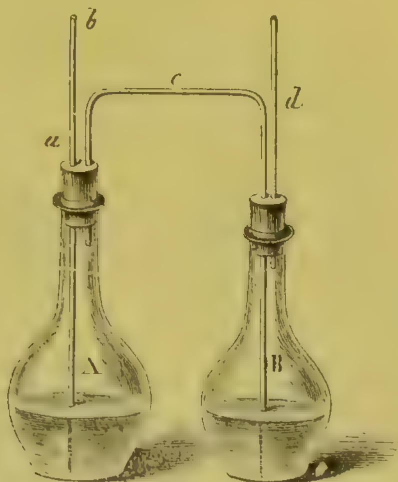
Der Apparat muss so beschaffen sein, dass man die beiden Gährungsprodukte nachweisen kann. Von den verschiedenen vorgeschlagenen sind folgende zwei praktisch.

a. Die sog. Schrötter'sche Gaseprouvette (Fig. 1), ein an beiden Seiten geschlossenes Glasrohr von der Grösse eines Reagensglases, an dessen unterem Ende eine schräg nach oben gerichtete Kugel mit engem Halse angeschmolzen ist.

Fig. 1.



Fig. 2.



Man zerschüttelt ein Stückchen Presshefe in einem Reagensglas mit dem Harn, giesst erst die trübe Flüssigkeit und darauf noch so viel Harn in die Eprouvette, dass der Apparat von oben bis in den Hals der Kugel gefüllt ist und lässt den Apparat aufrecht stehen. Die Kohlensäure sammelt sich im oberen Ende des Rohres an und verdrängt Flüssigkeit nach aussen in die Kugel. Aus der Kugel verdunstet fortwährend Kohlensäure und es kann geschehen, dass auch die bereits angesammelte Kohlensäure auf diesem Wege wieder vollständig entweicht. Es ist daher zweckmässig, die Kugel von dem Rohre durch etwas eingegossenes Quecksilber abzusperren. Will man sich überzeugen, ob das angesammelte Gas aus Kohlensäure besteht, so lässt man aus einer entsprechend gekrümmten Pipette etwas starke Lauge in das Rohr fliessen, worauf die Kohlensäure absorbirt wird. Den gebildeten Alkohol destillirt man aus der Flüssigkeit ab und prüft mit Jod-Jodkaliumlösung und Natronlauge; bei Anwesenheit von Alkohol entsteht ein gelber Niederschlag von Jodoform. Man begnügt sich meist mit dem Nachweis der Kohlensäure.

b. Der Fig. 2 abgebildete Apparat. In das Kölbchen A kommt der Harn mit der Hefe, in B wird klares Barytwasser gegossen. Die gebildete Kohlensäure gelangt nach B und erzeugt einen Niederschlag von kohlensaurem Baryt. Nach Beendigung der Gährung kann man durch den Apparat in der Richtung von A

nach B langsam kohlensäurefreie Luft saugen und so die ganze gebildete Kohlensäure mit dem Barytwasser in Berührung bringen. — Ausser diesen beiden Apparaten sind in älterer und neuerer Zeit noch verschiedene andere angegeben worden.

Die Gährungsprobe hat insofern etwas Missliches, als die Hefe auch für sich eine kleine Menge Alkohol und Kohlensäure entwickelt; man muss daher, wenn es sich um kleine Mengen Zucker handelt, immer einen Controlversuch mit einem normalen Harn unter ganz gleichen Bedingungen (mit gleich viel Hefe) anstellen. Ferner hat man sich in einem zweiten Controlversuch mit Harn, dem man etwas Zucker (auch Rohrzucker) zugesetzt hat, zu überzeugen, ob die verwandte Hefe Gährung erregen kann. Nach Einhorn ist es zweckmässig, den Harn vor dem Versuch 10 Minuten lang zu kochen, um ihn von absorbirter Luft zu befreien, weil dann die sich im blinden Versuch ansammelnde Gasmenge nur sehr klein (stecknadelkopfgross) ist. Ein Zusatz von Nährlösung zum Harn sowie ein Ausschluss von Spaltpilzgährung durch Zusatz eines Fluorids ist überflüssig. Bei Berücksichtigung der Controlprobe kann man nach Einhorn in nicht ausgekochtem Harn noch 0,1 %, in ausgekochtem Harn noch 0,05 % Zucker nachweisen. Kobrak sowie Moritz bestätigen diesen Grad der Empfindlichkeit der Probe. Der innerliche Gebrauch von antiseptischen Mitteln (salicylsaures Natron, Salol) beeinträchtigt nach Jasienski[1]) die Empfindlichkeit nicht.

9. Die **Polarisation.** Der Werth der Polarisation für den Nachweis des Zuckers ist vor Allem bedingt durch die Empfindlichkeit des benützten Polarimeters.

Es kommt dabei nicht blos auf das System an, sondern auch auf die Sorgfalt, mit welcher das Instrument hergestellt wurde. Worm-Müller[2]) giebt übereinstimmend mit Seegen an, dass man mit dem Ventzke-Soleil'schen Apparat 0,2 g Zucker in 100 cc Harn nicht mehr mit Sicherheit bestimmen, also auch nicht nachweisen kann. Ein Wild'sches Polaristrobometer von Hofmann in Paris lässt im Decimeterrohr noch den Nachweis von 0,1 g Zucker in 100 cc zu. In der Empfindlichkeit weit übertroffen werden diese Apparate aber von den Halbschattenapparaten nach Lippich. Bei einem solchen von Mechanikus Rothe in Prag hergestellten weichen die einzelnen Einstellungen bei der Untersuchung von Harn höchstens um $0{,}005^0$ von einander ab, und es liegen also Drehungen von $0{,}02—0{,}03^0$ ausserhalb der Beobachtungsfehler. Eine Drehung von $0{,}02625^0$ bedeutet für das 1-Decimeterrohr 0,05 g Zucker in 100 cc, für das 2-Decimeterrohr noch 0,025 g. Der Nachweis des Zuckers mit einem solchen Polarimeter kommt also an Empfindlichkeit dem durch die Proben von Worm-Müller und von Nylander gleich. In der That giebt nach meiner Erfahrung so schwach rechtsdrehender Harn auch stets die Nylander'sche Probe.

Die Rechtsdrehung fällt im Harn etwas schwächer aus, als dem Gehalt an Zucker entspricht, weil der normale Harn oft mehrere hundertstel Grad nach links dreht. Nicht jede Rechtsdrehung darf jedoch ohne Weiteres auf Zucker bezogen werden; Bornträger[3]) beobachtete zweimal bei Morphinisten eine nicht unbeträchtliche Rechtsdrehung, welche von einer durch Bleiessig fällbaren Substanz bewirkt wurde.

Der Harn darf kein Eiweiss enthalten, weil dieses links dreht; auch muss er klar sein. Durch Fällen mit Bleizucker lassen sich die trübenden Substanzen zugleich mit einem grossen Theil des Farbstoffs und, wie auch Mörner[4]) fand, ohne Verlust von Zucker leicht vollständig entfernen. Man filtrirt durch dasselbe Filter so oft, bis das Filtrat klar ist.

---

1) M. Einhorn, Virchow's Archiv **102**. 263. 1885; Deutsche med. Wochenschr. 13. 1891. — Kobrak, Nachweis kleiner Zuckermengen im Harn. Diss. Breslau 1887. — F. Moritz, Archiv f. klin. Med. **46**. 258. 1890. — T. Jasienski, Gazetta Lekarska 34. 1894. 895; Jahresb. f. Thierch. 1894. 299.

2) Worm-Müller, Pflüger's Archiv **35**. 91. 1885.

3) A. Bornträger, Archiv d. Pharm. [3] **17**. 293; Ztschr. f. anal. Ch. **20**. 315.

4) K. A. H. Mörner, Hygiea, Festband 1889; Jahresb. f. Thierch. 1889. 224.

10. Wahl der Methode. Es kommt ganz darauf an, worum es sich handelt. Will man wissen, ob Jemand überhaupt an Diabetes leidet, so wendet man zunächst die Moore-Heller'sche (Rubner'sche), oder die Trommer'sche oder die Böttger'sche Probe an; wenn das Reagens zur Hand ist, kann man auch die Probe von G. Hoppe-Seyler oder eine andere ähnliche ausführen; die Böttger'sche Probe kann zugleich für die Moore'sche benützt werden. Giebt eine der Proben eine sehr deutliche Reaction, so darf man den Zucker als nachgewiesen betrachten.

Fallen dagegen die Reductionsproben zweifelhaft aus, handelt es sich also um den Nachweis von nur Spuren Zucker, so ist von den Modificationen derselben für sich allein — etwa der Worm-Müller'schen oder der Nylander'schen Probe oder der Behandlung des Harns mit Thierkohle — nur die Nylander'sche geeignet, eine Entscheidung herbeizuführen, wenn sie negativ ausfällt, und auch nur dann, wenn der Harn nicht mehr als normale Mengen Ammoniak enthält und der Niederschlag auch nach langem Kochen weiss bleibt. Die anderen Modificationen für sich allein werden schwer allen Zweifel daran beseitigen, ob die reducirende Substanz Zucker sei oder nicht.

Es ist dann ein Verfahren zu wählen, welches auf einem anderen Princip als dem der Reduction beruht, deren zwei zur Verfügung stehen, die Gährung und die Polarisation. Die polarimetrische Untersuchung hat nur dann Werth, wenn das Polarimeter empfindlich genug ist. Dreht der Harn links (im Decimeterrohr einige Minuten), so darf der Harn als zuckerfrei betrachtet werden, dreht er nicht, so ist das Resultat zweifelhaft, dreht er schwach rechts, so enthält der Harn höchst wahrscheinlich Zucker. Um sich volle Gewissheit zu verschaffen, lässt man den Harn mit etwas Hefe (einen halben Tag bei 34° im Wasserbad) gähren, klärt ihn darauf durch Zusatz einer abgemessenen Menge (0,1—0,2 Vol.) concentrirter Bleizuckerlösung und polarisirt ihn wieder; das Verschwinden der Rechtsdrehung oder das Auftreten von Linksdrehung wenn der Harn optisch inactiv war, ist auf die Gegenwart von Zucker im Harn zu beziehen.

Entwickelt der Harn mit gährungsfähiger Hefe zweifellos mehr Gas als die Hefe mit Wasser, so spricht dieser Befund auch wenn der Unterschied nicht gross ist, für die Gegenwart von Zucker. Wie bei der Polarisation empfiehlt es sich, die Gährung für die Controle anderer Reactionen anzuwenden, für die Worm-Müller'sche Probe und die Behandlung des Harns mit Kohle; verschwindet die reducirende Substanz, so ist sie als Zucker anzusehen; und nur in diesem Falle beweist die Nylander'sche Probe etwas für die Gegenwart von Zucker. In

Verbindung mit der Gährung gewinnt dann auch die Furfurolprobe (zumeist nur bei quantitativer Ausführung) Bedeutung, aber nur in der Hand des Geübten.

In zweifelhaften Fällen sollte es Regel sein, die Entscheidung nicht blos von einer einzigen Probe abhängig zu machen, sondern zur Prüfung wenigstens noch eine andere zu Rathe zu ziehen.

2. Levulosen.

Es sind einige Male linksdrehende zuckerhaltige Harne beobachtet worden: von Ventzke, Zimmer und Czapek, Worm-Müller[1]), Seegen; häufiger, wenn auch noch selten, hat man in diabetischen Harnen durch Titriren erheblich (über 1%) Zucker mehr bestimmt, als durch die Polarisation, was gleichfalls auf die Anwesenheit einer linksdrehenden Substanz bezogen werden kann. Während die Verminderung der optischen Activität des Harns nicht nothwendig durch die Gegenwart eines linksdrehenden Zuckers bedingt sein muss, sondern auch bei Abwesenheit von Eiweisssubstanzen durch andere Körper, vor Allem durch die β-Oxybuttersäure, ferner durch Glykuronsäure-Verbindungen u. a. bewirkt sein kann, lässt die Linksdrehung diabetischen Harns nach den jetzigen Erfahrungen wohl keine andere Erklärung zu, als dass sie durch linksdrehenden Zucker veranlasst wird. Als ein solcher kommt zunächst die von Leo im diabetischen Harn entdeckte Zuckerart, die Laiose, in Betracht, welche nachweislich die Drehung mancher Zuckerharne vermindert. Die Eigenschaften dieser erklären aber nicht in allen Fällen die gemachten Wahrnehmungen und man muss daher noch einen zweiten linksdrehenden Zucker berücksichtigen, den Fruchtzucker, auf welchen die fraglichen Beobachtungen noch am Besten passen.

Ventzke beobachtete eine Linksdrehung von anderthalb Grad bei einem Harn, welcher mit Hefe in lebhafte Gährung gerieth. — In dem Fall von Zimmer und Czapek drehte nach Czapek's Untersuchung der eiweissfreie Harn stets links, anfangs — 1,40°, zuletzt — 0,17° und enthielt nach der Titrirung anfangs eine 9,8, zuletzt weniger als 1% Traubenzucker entsprechende Menge reducirender Substanz. Wie sich der Harn bei der Gährung verhielt, ist nicht untersucht. — In einem von Worm-Müller beobachteten Fall drehte der Harn (mit Ventzke-Soleil) um 0,3—0,5% Dextrose nach links, enthielt aber weniger als 0,3% Zucker.

In dem von Seegen[2]) beobachteten Fall von intermittirendem Diabetes trat die linksdrehende Substanz vorwiegend nach Genuss von Kohlenhydraten auf. Der Harn drehte bis 1,5° nach links, reducirte Fehling'sche Flüssigkeit, gohr leicht mit Hefe und zeigte nach der Gährung keine Linksdrehung mehr. Bei kurzer (eintägiger) Dauer der Gährung entsprach die gebildete Kohlensäuremenge der Menge des vorhandenen Zuckers, bei längerer Dauer (erheblich) mehr. Be-

---

1) Ventzke, Journ. f. prakt. Ch. 25. 79. 1842. — K. Zimmer, Deutsche med. Wochenschr. 28. 1876. 329. — F. Czapek, Prager med. Wochenschr. 14. 1876. 265. — Worm-Müller, Pflüger's Archiv 35. 98. 1885.

2) J. Seegen, Centralbl. f. d. med. Wiss. 1884. 753.

trachtet man den durch Titriren bestimmten Zucker als Fructose, so berechnet sich die spec. Drehung nach Seegen's ausgeführten Bestimmungen im Mittel zu — 96,4⁰, nach einer von Mauthner ausgeführten Bestimmung zu — 96,9⁰. Der Zucker stimmt also nahezu vollständig mit der Fructose überein.

Derselbe Fall wurde später von Külz[1]) untersucht. Der auf $^1/_3$ des ursprünglichen Volumens eingedampfte Harn reducirte alkalische Kupferhydratlösung stark, aber erst nach längerem Kochen. In höherer Temperatur drehte der Harn schwächer links, als in niederer; durch halbstündige Digestion des Harns mit Salzsäure wurde die Drehung aber nicht vermindert. Die Gährung verlief unter Bildung von Alkohol langsam und unregelmässig und ergab nicht soviel Kohlensäure, als sich aus der Zuckermenge berechnete (bei 12 tägiger Gährung 11,3 und 20,4 % des Zuckers statt 48,9 %). Die Seliwanoff'sche Fructosereaction mit Resorcin gab der Harn in ausgezeichneter Weise. Die reducirende Substanz liess sich grösstentheils durch Bleiessig fällen, der Rest durch Bleiessig und Ammoniak. Der weiter durch Fällen als Kupferhydratverbindung gereinigte Zucker besass die Zusammensetzung $n\,CH_2O$ und erwies sich nach seinem Osazon, welches die Krystallform, den Schmelzpunkt und die Zusammensetzung des Glucosazons besass, als eine Hexose. Mit dem Harn, dem durch Bleiessig und dem durch Kupferhydrat isolirten Zucker wurde die Reductionsgrösse und die Drehung ermittelt. Rechnet man allen durch Titriren bestimmten Zucker als Fructose, so ergiebt sich die spec. Drehung zu — 69,5, — 76,7 und — 67,5⁰. Nimmt man an, der Zucker habe so stark reducirt wie Traubenzucker, so ergiebt sich die spec. Drehung in den drei Fällen zu — 75,5, — 83,3 und — 73,3⁰.

Während sich die Beobachtungen von Seegen und Mauthner noch ganz gut mit der Annahme vertragen, der Zucker sei Fructose gewesen, ist dies nach den Wahrnehmungen von Külz durchaus nicht der Fall. Wenn wirklich nur ein einziger Zucker vorhanden war, was nach der spec. Drehung zweifelhaft erscheinen könnte, so spricht gegen die Anwesenheit von Fructose die zu geringe spec. Drehung, die Schwierigkeit der Reduction und der Gährung und vor Allem seine Fällbarkeit durch Bleiessig und durch Kupferhydrat. Diese Einwände bestehen aber auch, wenn man ein Gemisch von Traubenzucker mit einem anderen Zucker annimmt. Zu den Eigenschaften der Fructose passt das Gelingen der Seliwanoff'schen Reaction, die Abnahme der spec. Drehung mit der Zunahme der Temperatur der Lösung und die Beschaffenheit des Osazons, wiewohl dieses aus beigemischtem Traubenzucker allein entstanden sein könnte. Wäre der Zucker ein einheitlicher gewesen, so liesse er sich mit keinem der bekannten Zucker identificiren. Nach der spec. Drehung und anderen Eigenschaften käme er der noch wenig bekannten l-Galactose am Nächsten; diese besitzt nach E. Fischer und Hertz[2]) annähernd die spec. Drehung $[\alpha]_D = -74,7$, gährt nicht, und ihr Osazon schmilzt bei 192 bis 195⁰. Die l-Galactose krystallisirt, während der von Külz dargestellte Zucker einen Syrup bildete. Aber die Beobachtungen von Külz stehen in vollem Widerspruch zu denen von Seegen und Mauthner und der Fall ist durchaus räthselhaft.

Um ein Gemisch von rechts- und linksdrehendem Zucker könnte es sich in dem Fall von Röhmann[3]) gehandelt haben; in diesem drehte der Harn zwar rechts, aber schwächer, als seinem durch Titriren ermittelten Gehalt an Zucker entsprach, ungefähr wie eine Mischung von 0,9 Dextrose mit 0,1 Fructose. Von anderen linksdrehenden Substanzen war die Verminderung der Rechtsdrehung nicht verursacht. Es könnte hier Laiose zugegen gewesen sein.

Weitere Beobachtungen über das Vorkommen von linksdrehendem Zucker im Harn sind folgende. Carles untersuchte einen peptonfreien Harn mit $\alpha = -1,93^0$.

1) E. Külz, Ztschr. f. Biol. 27. 228. 1890.
2) E. Fischer und J. Hertz, Ber. d. chem. Gesellsch. 25. 1259. 1892.
3) Röhmann, Centralbl. f. klin. Med. 35. 1884.

Cotton giebt an, in gewissen Harnen linksdrehenden Zucker gefunden zu haben, am Häufigsten in icterischen Harnen. In den 4 ausgezeichnetsten Fällen dieser Art drehte der Harn 1,25°—2° nach links. Personne und Henninger[1]) haben ähnliche Erfahrungen gemacht.

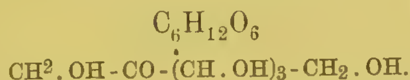
In einigen Fällen von Diabetes fand v. Mering[2]) im Harn einen linksdrehenden reducirenden Körper, der nach dem Kochen mit verdünnter Säure gährungsfähig war.

Die zuerst von Löwig veröffentlichte und in das Lehrbuch von Gorup-Besanez übergegangene Wahrnehmung, dass man manchmal aus diabetischem Harn nur schwer krystallisirenden Zucker erhält, lässt sich nicht ohne Weiteres in dem Sinne deuten, als ob es sich um Fruchtzucker gehandelt habe.

Wiewohl das Verkommen von Fruchtzucker in linksdrehendem Harn nicht sicher gestellt ist, so gebe ich doch, um weitere Forschungen zu erleichtern, eine Beschreibung der Eigenschaften dieses Zuckers.

a. Fruchtzucker.

$$C_6H_{12}O_6$$


$CH_2.OH-CO-(CH.OH)_3-CH_2.OH$.

Synonyme: d-Fructose, Levulose.

A. *Eigenschaften.* 1. Die Levulose krystallisirt aus reinen Lösungen (Jungfleisch und Lefranc), unreine Lösungen hinterlassen den Zucker amorph. Aus Wasser krystallisirt er nach Hönig und Jesser[3]) wasserhaltig $2\,C_6H_{12}O_6$, H_2O in wawellitartig geordneten Gruppen langer Nadeln, aus absolutem Alkohol wasserfrei. Die Krystalle sind nicht hygroskopisch. Der Zucker schmilzt bei 95°, bei 100° verliert er unter Zersetzung Wasser.

2. Er löst sich leicht in Wasser, leichter als der Traubenzucker in Alkohol.

Angaben über die Dichte der Fruchtzuckerlösungen finden sich bei Hönig und Jesser, sowie Ost[4]).

3. Die spec. Drehung ist bei 20° von Ost[5]) gefunden worden zu $[\alpha]_D = -(91,90 + 0,111\,p)$, wo p bedeutet g Zucker in 100 g Lösung. Für verdünntere Lösungen ist die spec. Drehung etwas geringer. Mit dem Ansteigen der Temperatur der Lösung nimmt die spec. Drehung ab, und zwar für eine Temperatursteigerung von 1° C. ungefähr um 0,6°.

---

[1]) P. Carles, L'Union pharm. 1. 1890; Chem. Centralbl. 1890. **2**. 317. — S. Cotton, Bull. de la Soc. chim. [2] **33**. 546. 1880. — Personne und Henninger, daselbst 547.

[2]) v. Mering, Beilage z. Tageblatt der 49. Naturforscher-Versammlung; Jahresber. f. Thierch. 1876. 144.

[3]) Jungfleisch und Lefranc, Comptes rendus **93**. 547. 1881. — M. Hönig und L. Jesser, Monatshefte f. Ch. **9**. 562. 1888.

[4]) Hönig und Jesser a. a. O. 575.

[5]) H. Ost, Ber. d. chem. Gesellsch. **24**. 1638. 1891.

In naher Uebereinstimmung hiermit fanden Parcus und Tollens die spec. Drehung einer nahezu 10 procentigen Levuloselösung bei 20° = — 92,25°. Jungfleisch und Grimbert[1]) drücken die spec. Drehung durch die Formel $[\alpha]_D^t$ = — [101,38 — 0,56 t + 0,108 (p—10)] aus, worin p = g Levulose in 100 cc; einfacher lassen sich die von Jungfleisch und Grimbert beobachteten Werthe ausdrücken durch die von mir berechnete Formel $[\alpha]_D^t$ = — (99,56 + 0,139 p — 0,56 t). Die Werthe gelten für Temperaturen zwischen 0 und 40° und für Concentrationen unter 40 g in 100 cc. Die einzelnen spec. Drehungen für die verschiedenen Concentrationen gehen den nach Ost berechneten parallel, sind aber kleiner als die von Ost, während sie grösser sein sollten, da Ost der Berechnung Gewichtsprocente zu Grunde legt, Jungfleisch und Grimbert dagegen g Zucker in 100 Cubikcentimeter. — Hönig und Jesser[1]) geben folgende Formel: $[\alpha]_D^{20}$ = — 113,96 + 0,258 q, worin q die Menge des inactiven Lösungsmittels bedeutet, oder nach meiner Berechnung der Constante $[\alpha]_D^{20}$ = — (88,15 + 0,258 p), worin p der Procentgehalt der Lösung. Nach Hönig und Jesser nimmt ferner die spec. Drehung der Levulose mit steigender Temperatur für jeden Grad um 0,671° ab. Dafür lässt sich setzen $[\alpha]_D^t$ = — (101,57 + 0,258 p — 0,671 t). Die danach berechneten Werthe steigen mit der Zunahme der Concentration erheblich stärker an, als die nach Ost berechneten Werthe. Vielleicht liegt der Grund dieser Abweichung darin, dass Hönig und Jesser Schwefelsäure zur Verzuckerung des Inulins verwandten, die nicht ohne zersetzenden Einfluss auf die Fructose ist.

Nach Jungfleisch und Grimbert beträgt für jeden 1° der Temperaturzunahme die Abnahme der spec. Drehung 0,56°, nach Hönig und Jesser 0,671°.

Ausser Concentration und Temperatur der Lösung haben noch andere Umstände Einfluss auf die Drehung. Eine frisch bereitete Lösung zeigt nach Jungfleisch und Grimbert eine etwas stärkere Drehung als die constante; bei mehrstündigem Stehen, schneller beim Erwärmen, geht die Drehung wieder auf die constante zurück. Als stärkste Mehrdrehung beobachteten Parcus und Tollens 6 Min. nach Herstellung der Lösung — 104°. — Wird eine Levuloselösung erwärmt und dann wieder auf die ursprüngliche Temperatur abgekühlt, so zeigt die Lösung nach Jungfleisch und Grimbert jetzt eine geringere Drehung als vorher, ohne dass sonst Zeichen einer Zersetzung (Gelbfärbung) wahrnehmbar sind. Diese Aenderung macht sich schon bei 15 Min. langem Erwärmen bemerkbar und wächst mit der Dauer der Temperatursteigerung. — Dagegen erhöht nach Jungfleisch und Grimbert, in theilweiser Uebereinstimmung mit den Erfahrungen von Gubbe[2]), die Gegenwart relativ starker Säuren (Schwefelsäure, Salzsäure, Oxalsäure) die spec. Drehung der Levulose dauernd, in der Wärme in höherem Grade als bei gewöhnlicher Temperatur; die Steigerung der Drehung bleibt auch erhalten, wenn die Säure wieder neutralisirt wird. Essigsäure und Ameisensäure sind dagegen ohne Einfluss auf die Drehung. Wohl ist in Bezug auf die Einwirkung der Salzsäure zu entgegengesetzten Erfahrungen gelangt (A. 7).

4. Verbindungen.

a. Wie der Traubenzucker giebt auch der Fruchtzucker eine in Alkohol unlösliche Verbindung mit Natron $C_6H_{11}NaO_6$ oder Kali. Eine in Wasser schwer lösliche Verbindung desselben mit Kalk, $C_6H_{12}O_6$,

---

1) E. Parcus une B. Tollens, Ann. d. Ch. **257**. 166. 1890. — E. Jungfleisch und L. Grimbert, Comptes rendus **107**. 390. 1888. — Hönig und Jesser a. a. O.

2) E. Jungfleisch und L. Grimbert, Comptes rendus **108**. 144. 1889. — O. Gubbe, Berichte der chem. Gesellsch. **18**. 2210. 1885.

$Ca(OH)_2$, krystallisirt in farblosen, mikroskopischen Nadeln (Dubrunfaut, Peligot). Durch Bleizucker und durch Bleiessig wird die Fructose nach Külz[1]) nicht gefällt, auch nicht aus Harn (wenn reine Fructose Harn zugesetzt war). Mit dem Kupferreagens von Guignet giebt der Fruchtzucker ebensowenig eine unlösliche Verbindung, wie nach meiner Erfahrung nach dem Verfahren von Salkowski (S. 96), und unterscheidet sich dadurch vom Traubenzucker und der Galactose. (S. 77).

Zur Darstellung des Levulosekalks schüttelt man nach Peligot die Zuckerlösung mit nicht mehr als 6—8 % des Zuckers gesiebten Kalkhydrats, filtrirt schnell und kühlt auf 0° ab, worauf die Krystallisation beginnt. Nach einigen Stunden werden die Krystalle auf einem Saugfilter mit kaltem Wasser gewaschen, erst auf Filtrirpapier, dann im Vacuum getrocknet. Aus der Calciumverbindung lässt sich der Zucker durch Oxalsäure gewinnen.

b. Mit Phenylhydrazin liefert die Fructose dasselbe Osazon, wie die Glucose; nur entsteht die Verbindung etwas schneller. (E. Fischer[2]). Bei der Behandlung desselben erst mit rauchender Salzsäure, dann mit Zinkstaub und Essigsäure erhält man aus ihm die Fructose wieder. (S. 80).

c. Durch Diphenylhydrazin sowie durch Benzhydrazid wird der Fruchtzucker nicht gefällt (S. 80) f. Diese Reagentien gestatten also eine Trennung der Fructose vom Traubenzucker; leichter als mit Hydrazid lässt sich diese Trennung nach Ekenstein und Lobry de Bruyn (S. 81) bewerkstelligen mit Benzyl- und mit Naphtylhydrazin.

d. Mit den Mercaptanen vereinigt sich die Fructose, zum Unterschied von den Aldosen, nicht (S. 77 und Lawrence[3]).

e. Die Fructose bildet wie der Traubenzucker (S. 97) Benzoësäureester; im günstigsten Fall nimmt aber die Fructose nur 4 Mol. Benzoësäure auf. (Skraup[4]).

5. Die Reactionen der Levulose sind, soweit bekannt, dieselben wie die des Traubenzuckers, nur scheint die Levulose noch leichter zersetzlich zu sein, als die Dextrose; eine wässrige reine Levuloselösung beginnt nach Jungfleisch und Grimbert schon über 40° gelb zu werden.

a. Mit den Alkalien und den alkalischen Erden färbt sich ihre Lösung gelb oder braun; sie liefert dabei nach Ssorokin Milchsäure, nach Araki[5]) ausserdem Brenzkatechin, Ameisensäure, Aceton; bei der Behandlung der Levulose mit Kalk entsteht auch Saccharinsäure.

b. Das Reductionsvermögen des Fruchtzuckers für Kupferhydrat ist geringer als das des Traubenzuckers; Soxhlet[6]) berechnet nach dem Verhalten

---

[1]) Eug. Peligot, Comptes rendus **90**. 153; Ber. der chem. Gesellsch. **13**. 134. — E. Külz, Ztschr. f. Biol. **27**. 235. 1890.

[2]) E. Fischer, Berichte d. chem. Gesellsch. **17**. 581. 1884.

[3]) W. T. Lawrence, Berichte d. chem. Gesellsch. **29**. 547.

[4]) Z. Skraup, Monatshefte f. Ch. **10**. 397. 1889.

[5]) W. Ssorokin, Ber. d. chem. Gesellsch. **18**. Rf. 610. 1885. — T. Araki, Ztschr. f. physiol. Ch. **19**. 462. 1894.

[6]) Soxhlet, Journ. f. prakt. Chem. [2] **21**. 274.

des Invertzuckers und des Traubenzuckers, dass Fruchtzucker unter denselben Verhältnissen 4,65 Mol. CuO reducirt, unter denen vom Traubenzucker 5,05 Mol. CuO reducirt werden; das Reductionsvermögen des Traubenzuckers für Kupferoxyd verhält sich also zu dem des Fruchtzuckers unter den angegebenen Verhältnissen wie 100 : 92,08. Dieselben Umstände, welche das Reductionsvermögen des Traubenzuckers erhöhen oder erniedrigen, wirken in demselben Sinne auf das Reductionsvermögen des Fruchtzuckers ein. — Levulose liefert nach Habermann und Hönig[1]) bei der Oxydation mit Kupferhydrat dieselben Zersetzungsprodukte wie der Traubenzucker (S. 104); die Oxydation verläuft aber schneller als bei der Dextrose.

c. Gegen die Knapp'sche Quecksilberoxydlösung verhält sich der Fruchtzucker nahezu gleich dem Traubenzucker, dagegen wird Sachsse'sche Quecksilberoxydlösung durch Levulose stärker reducirt, wie durch Dextrose, so dass man für die vollständige Reduction eines gleichen Volumens Sachsse'scher Lösung weniger Fruchtzucker verbraucht wie Traubenzucker; nach Sachsse werden 16,67, nach Soxhlet 16 Gewichtstheile Traubenzucker vertreten durch 10 Gewichtstheile Fruchtzucker. — Concentrirtere Levuloselösungen reduciren beide Quecksilberlösungen relativ stärker als verdünntere. — Bei der Oxydation mit rothem Quecksilberoxyd und Baryrumhydrat entstehen nach Börnstein und Herzfeld[2]) Trioxybuttersäure und Glykolsäure.

d. Wolframsäure wird in Gegenwart von überschüssigem Natronhydrat durch Fructose reducirt, durch Traubenzucker dagegen nicht (Maschke[3]).

6. Die Fructose gibt Farbenreactionen (Furfurolreactionen) wie der Traubenzucker; von allen anderen Zuckerarten unterscheidet sich aber die Fructose (und die Sorbose) durch die Reaction von Seliwanoff (mit Resorcin) (S. 71).

Diese Reaction ist zuerst von Ihl und Pechmann beschrieben worden. Nach ihnen entsteht auf Zusatz von Levulose zu einer erwärmten concentrirten alkoholischen, mit etwas Salzsäure versetzten Lösung von Resorcin schnell eine zwiebelrothe Färbung; Seliwanoff erhielt einen in Alkohol mit rother Farbe löslichen Niederschlag beim Erwärmen von Levulose und Resorcin mit Salzsäure. Fast genau dasselbe Resultat erhält man mit Pyrogallol, nur scheidet sich bei längerem Erwärmen ein harziger, rother bis violetter Niederschlag ab (Loew). — Beim Kochen von Levulose mit concentrirter alkoholischer Lösung von Diphenylamin und etwas Salzsäure färbt sich die Flüssigkeit erst gelblichgrün, später dunkelblau (Ihl und Pechmann[4]).

7. Bei der Einwirkung von wenig selbst sehr verdünnter Salzsäure auf Fruchtzucker entsteht nach Wohl in Folge einer Reversion ein schwächer drehendes und weniger reducirendes dextrinartiges Product (Levulosin). Der unverändert gebliebene Zucker und die neue Substanz zusammen drehen und reduciren dann schwächer als die ursprüngliche Lösung. — Beim Kochen mit verdünnten nicht oxydirenden Mineralsäuren liefert die Levulose viel Levulinsäure $C_5H_8O_3$, Ameisensäure, Kohlensäure, wenig Furfurol und Huminsubstanzen. Bei 3stündigem Erhitzen mit $2^1/_4$ normaler Salzsäure im Wasserbad wird Levulose in 1—2proc. Lösung nach Sieben fast vollständig, Traubenzucker unter gleichen Verhält-

---

1) Habermann und Hönig, Monatshefte f. Ch. **3**. 651. 1882.

2) Sachsse, Chem. Centralbl. 1877. 471. — Soxhlet, a. a. O. 310. — Börnstein und Herzfeld, Ztschr. d. Ver. f. d. Rübenz.-Industrie des deutschen Reichs 1886. 42; Ann. d. Ch. **245**. 27.

3) O. Maschke, Ztschr. f. analyt. Ch. **16**. 428. 1877.

4) Ihl und A. Pechmann, Chem. Centralbl. 1885. 761. — Loew, Journ. f. prakt. Ch. [2] **33**. 332. 1886.

nissen dagegen nur zum kleinsten Theile zerstört. — In Berührung mit concentrirter Schwefelsäure färbt sich die Fructose sogleich schwarz (Worm-Müller[1]).

f. Fruchtzucker gährt mit gewöhnlicher Alkoholhefe wie Traubenzucker, nur schwieriger und langsamer (Dubrunfaut sowie Gayon und Dubourg[2]), ebenso mit Mucor alternans, schneller dagegen mit Saccharomyces exiguus (Gayon und Dubourg).

B. *Nachweis.* Die vorliegenden Erfahrungen über den Harn sind zu gering, als dass man für den Nachweis der Fructose kaum mehr als Vorschläge machen kann. Nach dem Stand der Thatsachen braucht man nicht überrascht zu sein, wenn man etwas Anderes findet als man erwartet. Grund zu der Annahme, dass der in einem Harn enthaltene Zucker wenigstens zum Theil ein linksdrehender sei, hat man nur dann, wenn der Harn links dreht, oder schwächer rechts, als seinem auf Traubenzucker berechneten Gehalt an Zucker entspricht, und ausserdem der Nachweis geführt wird, dass die beobachtete Linksdrehung nicht von anderen linksdrehenden Substanzen herrührt.

Eine Linksdrehung des Harns kann bedingt sein durch Eiweisskörper (Albumin und Globulin, Pepton, Glykuronsäure-Verbindungen, β-Oxybuttersäure und allenfalls noch durch Cystin. Erfahrungsgemäss ist eine solche Linksdrehung nur gering. Von der An- oder Abwesenheit der Eiweisskörper kann man sich leicht durch die entsprechenden Reactionen überzeugen.

Ein Gährungsversuch giebt darüber Auskunft, ob und wie weit die Linksdrehung oder die Verminderung der Rechtsdrehung verursacht ist durch andere Substanz als linksdrehenden Zucker.

Nach Ablauf der Gährung ist der Harn durch Bleizucker zu klären und die nun wahrnehmbare Drehung mit der des Harns vor der Gährung zu vergleichen. Ist die bleibende Drehung verhältnissmässig gering, so handelt es sich wahrscheinlich um einen Zucker.

Dreht der Harn links, so ist die spec. Drehung des Zuckers zu ermitteln.

Dazu bestimmt man die Menge des in 100 cc Harn enthaltenen Zuckers durch Titriren mit Fehling'scher Lösung in g, dividirt durch diese Zahl den im Eindecimeterrohr beobachteten Drehungswinkel und multiplicirt den erhaltenen Werth mit 100. Um die berechnete Drehung mit der der Fructose vergleichbar zu machen, hat man sie noch mit 0,9208 zu multipliciren.

Es empfiehlt sich ferner, den Zuckergehalt des Harns auch nach Sachsse (A. 5. c.) zu bestimmen. Ferner ist das Osazon darzustellen und sein Schmelzpunkt und sein Stickstoffgehalt (nach Dumas) oder sein Gehalt an Kohlenstoff und Wasserstoff zu ermitteln. Die Bestimmung des Stickstoffs giebt Aufschluss darüber, ob man es mit einer Hexose zu thun hat oder nicht. Auch darf nicht unterlassen werden, mit dem Harn die Seliwanoff'sche Farbenreaction mit Resorcin (A. 6.) anzustellen.

1) A. Wohl, Ber. d. chem. Gesellsch. **23**. 2092. 1890. — E. Sieben, Ztschr. f. analyt. Ch. **24**. 137. 1885. — Worm-Müller, Journ. f. prakt. Ch. [2] **26**. 84. 1882.

2) U. Gayon und Dubourg, Comptes rendus **110**. 865. 1890.

Volle Gewissheit über die Art des vorliegenden Zuckers erlangt man jedoch nur durch seine Reindarstellung. Die Fructose lässt sich nach dem Verfahren von Peligot (A. 4. a) mit Kalkhydrat abscheiden. Der von Külz beobachtete Zucker war zum Unterschied von der Fructose durch Bleiessig, sowie nach dem Verfahren von Salkowski (S. 96) als Kupferhydratverbindung fällbar. Traubenzucker lässt sich aus der Lösung des Zuckers in Methylalkohol nach Scheibler (S. 96) durch eine methylalkoholische Barytlösung abscheiden.

Das Fällen mit Kalkhydrat setzt eine ungefähre Kenntniss der Zuckermenge voraus; um die vorgeschriebene Menge von Kalkhydrat in Anwendung bringen zu können, ist es erforderlich, die Phosphorsäure aus dem Harn zu entfernen dadurch, dass man den Harn alkalisch macht und mit Chlorcalcium ausfällt. Der Fällung mit Kupferhydrat oder mit Bleiessig hat zu demselben Zweck eine Fällung mit Bleizucker vorausgehen zu lassen, unter möglichster Vermeidung eines Ueberschusses. Der Bleiessig wird dem Filtrat unmittelbar zugesetzt; bei dem Verfahren von Salkowski fällt man das überschüssige Blei mit Kupfersulphat aus und fügt dann so lang vorsichtig Natronlauge zu, bis das Filtrat alkalische Kupferlösung nicht mehr reducirt. Der Kupferniederschlag ist möglichst bald von der alkalischen Flüssigkeit zu trennen, weil sonst Reduction eintritt. Der Blei- und der Kupferniederschlag werden ausgewaschen, in Wasser (ohne Zusatz von Säure) vertheilt, mit Schwefelwasserstoff zerlegt und die Filtrate eingedampft.

Von dem so isolirten Zucker sind abermals die Eigenschaften zu untersuchen. Man wird dann meistens erfahren, ob er mit einem der bekannten linksdrehenden Zucker übereinstimmt oder nicht.

b. Laiose.[1])



$(CH_2O)n.$

Synonym: Leo'scher Zucker.

A. *Vorkommen.* Wurde von Leo[2]) in 3 von 21 diabetischen Harnen gefunden. Diese waren dadurch ausgezeichnet, dass sie bei der quantitativen Untersuchung, wenn das Resultat auf Traubenzucker bezogen wurde, durch Titrirung 1,2—1,8 % mehr Zucker ergaben, als durch die Polarisation. Einer der Harne war optisch inactiv und hätte nach der Titrirung 1,8 % Traubenzucker enthalten. Die Fälle selbst waren schwer. Aus 10 *l* normalem Harn konnte der Zucker nicht gewonnen werden.

B. *Eigenschaften.* Von anderen Zuckerarten unterscheidet sich diese Substanz im Wesentlichen durch den Mangel des süssen Geschmackes, die Gährungsunfähigkeit, eine geringere Reductionsfähigkeit als die des Traubenzuckers und eine besondere spec. Drehung. Die Reductionsfähigkeit und das Vermögen, mit Phenylhydrazin eine

1) Laiose, von λαιός, link. Ich schlage diesen Namen für den von Leo unbenannt gelassenen Zucker vor.

2) Hans Leo, Virchow's Archiv **107**. 108. 1887.

Verbindung einzugehen, charakterisiren den Körper als Zucker. Er lässt sich aber mit keinem der bekannten Zucker identificiren und es ist selbst zweifelhaft, ob er eine Hexose oder eine Pentose (d-Xylose?) ist.

1. Neutraler hellgelber Syrup, krystallisirt auch bei einjährigem Aufbewahren nicht; bei langem Trocknen über Schwefelsäure nimmt der Zucker firnissartige Consistenz an. Stickstoff- und schwefelfrei. Die Zusammensetzung des bei 100⁰ getrockneten Zuckers entspricht n CH_2O; im Vacuum über Schwefelsäure wird er nicht völlig trocken.

2. Löst sich leicht in Wasser, etwas weniger in Methylalkohol, noch weniger in Aethylalkohol, nicht in Aether, Essigäther, Chloroform. Der noch aschehaltige Zucker schmeckt nicht süss, sondern scharf und salzartig.

3. Zwei Bestimmungen mit 2- und 3proc. Lösungen ergaben im Ventzke-Soleil'schen Polarimeter $[\alpha]_D = -25{,}41^0$ und $-26{,}73^0$ (Mittel $-26{,}07^0$).

4. a. Die Lösung in Methylalkohol wird durch methylalkoholische Barytlösung nicht gefällt, es bildet sich dabei aber eine Barytverbindung, welche durch Kohlensäure nicht zerlegt wird, in Alkohol und in Aether unlöslich ist, und nicht krystallisirt.

b. Bleizucker und Bleiessig fällen den Zucker nicht, Bleiessig und Ammoniak dagegen fällen ihn quantitativ. Der Niederschlag färbt sich beim Erhitzen nicht.

c. Beim Erwärmen seiner Lösung mit essigsaurem Phenylhydrazin fällt ein gelbbraunes, nicht krystallisirendes Oel aus; dasselbe ist unlöslich in Wasser, löst sich aber in Alkohol; aus der alkoholischen Lösung scheidet sich die Verbindung wieder blos als Oel ab.

5. a. Wird die Lösung mit Natron- oder Kalilauge erhitzt, so färbt sie sich blos dunkelgelb (nicht braun).

b. Der Zucker reducirt in alkalischer Lösung Metalloxyde. Er löst bei Gegenwart von Alkalien Kupferhydrat, die Lösung wird aber nicht lazurblau, sondern behält die Farbe des Kupfersalzes bei. Die Lösung scheidet Kupferoxydul aus, erst nachdem sie einige Secunden gekocht worden ist. 1 Mol. Laiose reducirt nur 2,012 Mol. CuO, ihr Reductionsvermögen beträgt also nur 0,4 von dem des Traubenzuckers.

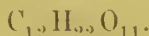
c. Der isolirte Zucker gährt nicht, auch nicht, „wenn man die Substanz in wässriger Lösung mit verdünnter Salzsäure oder Schwefelsäure kocht und nach dem Abkühlen mit Hefe versetzt." Nach der Vergährung des zugleich dextrosehaltigen Harns aber zeigt die Flüssigkeit (mit Ventzke-Soleil) keine Linksdrehung.

C. *Darstellung.* Der Harn wird mit Bleiessig und das Filtrat mit Ammoniak ausgefällt. Der zweite Niederschlag enthält die Laiose neben der Dextrose; die polarimetrische Untersuchung des Filtrats giebt Aufschluss darüber, ob die Fällung eine vollständige ist oder nicht. Der Niederschlag wird mit Wasser gewaschen und mit Schwefelwasserstoff zerlegt. Da die abfiltrirte Flüssigkeit beim Eindampfen an der Luft dunkel wird, concentrirte sie Leo durch Destillation im Vacuum, zuletzt über Schwefelsäure. Der syrupöse Rückstand wird in Methylalkohol gelöst und der mit in Lösung gegangene Traubenzucker durch Zusatz methylalkoholischer Barytlösung bis zur stark alkalischen Reaction ausgefällt. Man filtrirt schnell und lässt das Filtrat zur Entfernung des in Lösung befindlichen Ammoniaks über Schwefelsäure stehen, wobei

neben kohlensaurem Baryt der Rest noch vorhandenen Zuckerbaryts ausfällt. In das Filtrat wird zur Fällung des überschüssigen Baryts Kohlensäure geleitet, von der Flüssigkeit, ohne dass man vorher filtrirt, der Methylalkohol im Vacuum abdestillirt, der Rückstand in Wasser aufgenommen und der in Lösung befindliche Baryt durch Schwefelsäure gefällt. Das in noch beigemengten Salzen enthaltene Chlor entfernte Leo durch eine aequivalente Menge Silbersulphat in Lösung.

D. *Nachweis.* In Harnen, welche nach der Titrirung nicht wesentlich mehr Traubenzucker enthalten als nach der Polarisation, wird man den Zucker nicht zu suchen haben. Man führt den Nachweis durch Darstellung der Verbindung, wodurch allein, wenn man einen reducirenden Körper erhält, die Gegenwart der Laiose schon wahrscheinlich wird. Es ist dann das Verhalten der Substanz gegen Alkoholhefe und bei der Trommer'schen Probe zu untersuchen. Endlich bestimmt man in ein und derselben Lösung den Gehalt an Zucker durch Titriren mit Fehling'scher Lösung und durch Polarisation; nimmt man das Reductionsvermögen zu 0,4 von dem des Traubenzuckers und $[\alpha]_D = -26^0$ an, so müssen beide Resultate übereinstimmen, wenn es sich um Laiose handelt.

3. Isomaltose.



$C_{12}H_{22}O_{11}$.

Synonym: Gallisin.

A. *Vorkommen.* Ist von Baisch, sowie von Lemaire[1]) in kleinen Mengen als Bestandtheil der aus Harn gewinnbaren Benzoësäureester (S. 66) aufgefunden worden. Ob sie präformirt im Harn vorkommt oder erst im Laufe der Darstellung aus Traubenzucker entsteht, bleibt dahingestellt.

Die Isomaltose entsteht nach Wohl schon bei kurzer Einwirkung sehr verdünnter Salzsäure auf Traubenzucker in der Wärme in kleiner Menge. Sie kann nach E. Fischer dargestellt werden durch 15stündiges Aufbewahren einer Lösung von Traubenzucker in Salzsäure von 1,19 Dichte bei 15—10^0, sowie nach Scheibler und Mittelmeier bei 12stündiger Digestion von Traubenzucker mit 2,5proc. Schwefelsäure im Wasserbad; sie bildet sich daher bei der Verzuckerung des Stärkemehls mit Säure und macht nach Schmitt und Cobenzl[2]) einen Bestandtheil des unvergährbaren Antheils des Stärkezuckers (Gallisin) aus.

B. *Eigenschaften.* Nach E. Fischer amorph, wird an der Luft klebrig und zerfliesst zu einem Syrup. In Aetheralkohol schwer löslich. $[\alpha]_D = 68{,}0^0$ (Schmitt u. Rosenhek).

---

[1]) K. Baisch, Ztschr. f. physiol. Ch. **19**. 364. 1894; **20**. 248. 1894. — F. A. Lemaire, daselbst **21**. 446. 1895.

[2]) A. Wohl, Ber. d. chem. Gesellsch. **23**. 2092. 1890. — E. Fischer, daselbst **23**. 3688. 1890; **28**. 3024. 1895. — C. Scheibler und H. Mittelmeier, daselbst **24**. 301. 1891. — C. Schmitt und Cobenzl, daselbst **17**. 1000. 1884. — Schmitt und J. Rosenhek. a. a. O. 2464.

2. Bildet mit Kalium und Baryum salzartige Verbindungen (Schmitt u. Cobenzl); wird durch die Bleiacetate nicht gefällt (Baisch), die Kaliumverbindung wird aber aus Alkohol durch alkoholische Bleizuckerlösung niedergeschlagen (Schmitt und Cobenzl).

3. Das Osazon, $C_{24}H_{32}N_4O_9$, bildet nach E. Fischer citronengelbe, kugelige Drusen äusserst feiner biegsamer Nadeln, bäckt im Vacuum über Schwefelsäure zusammen und färbt sich dabei rothbraun, liefert aber beim Zerreiben ein hellgelbes Pulver, das seine Farbe bei einstündigem Trocknen bis 105° beibehält. Beginnt gegen 140° (145° Scheibler und Mittelmeier) zu sintern und schmilzt zwischen 150 und 153° oder einige Grade darüber (Fischer), (bei 152—153° Scheibler und Mittelmeier); über 200° schwärzt es sich unter Gasentwickelung (Scheibler und Mittelmeier). Es löst sich nach E. Fischer in 4 Theilen heissem Wasser (Maltosazon in 75 Theilen) und scheidet sich beim Erkalten wieder in gelben Flocken aus, sehr schwer in wasserhaltigem Essigäther und in wasserfreiem fast gar nicht; in heissem absoluten Alkohol ist es viel leichter löslich als das isomere Maltosazon. Die alkoholische Lösung dreht schwach rechts, für weisses Licht $[\alpha]_D = 7°$. Seine Lösung in Salzsäure von 1,19 Dichte färbt sich bei Zimmertemperatur dunkelbraun und dabei zersetzt sich das Osazon zu Phenylhydrazin und Isomaltoson; bei Erwärmen mit 4 proc. Salzsäure wird es in Traubenzucker und Glucoson gespalten.

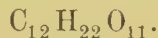
4. Die Isomaltose gährt nicht mit Bierhefe und wird durch Hefeenzyme nicht gespalten.

5. Sie reducirt Fehling'sche Lösung so stark wie $^4/_9$ Traubenzucker (Schmitt und Rosenhek); sie wirkt nach Lemaire auch reducirend auf Nylander'sche Lösung.

6. Die Isomaltose aus Harn giebt nach Baisch mit α-Naphtol eine starke Furfurol-Reaction.

C. *Nachweis.* Die Isomaltose wird aus dem Harn als Benzoat abgeschieden und, wie S. 66 angegeben ist, isolirt.

4. Milchzucker.



$C_{12}H_{22}O_{11}$.

Synonym: Lactose.

A. *Vorkommen.* Der Milchzucker findet sich in kleiner Menge im Harn der Frauen (ungefähr 1 °/₀ im Maximum) und weiblichen Thiere bei Milchstauung (Sinéty, F. Hofmeister, Kaltenbach[1]). Man bezeichnet diesen Zustand als Lactosurie. Nach dem Genuss von

[1]) F. Hofmeister, Ztschr. f. physiol. Ch. **1**. 103. 1877. — Kaltenbach, Ztschr. f. physiol. Ch. **2**. 360.

100 g Milchzucker und darüber enthält der Harn nach Worm-Müller eine deutlich nachweisbare Menge Milchzucker. Méhu fand im Harn von Kranken, welche eine Zeit lang blos Milch zu sich nahmen, häufig Zucker. Beim Diabetiker erscheint aber nach F. Voit nach dem Genuss von Milchzucker (oder Galactose) Traubenzucker im Harn (S. 94) und umgekehrt nach Zülzer bei (5 von 16) Wöchnerinen nach dem Genuss von (150 g) Traubenzucker Milchzucker. Mit Magen-Darmkatarrh behaftete Säuglinge scheiden nach Gross[1]) Milchzucker im Harn aus.

Das Vorkommen von Zucker im Harn von Wöchnerinen ist vielfach bestätigt worden. **Ney fand bei 115 von 148 Wöchnerinen Zucker. — Luther wies in** allen von ihm untersuchten Harnen von Wöchnerinen, mit und ohne Milchstauung, 0,2—0,7 % Milchzucker nach, bei Milchstauung am Meisten, am 2.—4. Tage nach der Entbindung etwa doppelt so viel als am 10. und 11. Tage. — Lemaire fällte den Zucker als Benzoat und stellte aus ihm das Osazon dar; er fand so bei 19 Wöchnerinen ohne Ausnahme vom 1. bis 12. Tage nach der Geburt, neben Traubenzucker wie im gewöhnlichen Harn, Milchzucker, bei Schwangeren dagegen selbst 2 Tage vor der Geburt, während schon Milchstauung bestand, keinen. Durch Titriren des aus den Benzoësäureestern dargestellten Zuckers vor und nach der Gährung mit Hefe und Kefyr, welcher Trauben- und Milchzucker vergährt, bestimmte Lemaire den Milchzuckergehalt zu 0,013—0,044 %. Von den 19 Harnen gaben 13 auch die Nylander'sche Probe und 2 schieden beim Kochen aus alkalischer Kupferlösung Kupferoxydul ab. — Nach Zacharjewsky[2]) nimmt die Reductionsfähigkeit des Harns von der Geburt an bis zum 4. Tage zu (von 0,32 bis 0,52 %), sinkt dann etwas, aber nicht bis zum normalen Verhalten und erreicht am 8. Tage wieder 0,53 %.

Die Assimilationsgrenze für Milchzucker beim gesunden Säugling fand Gross bei 8,6 g für 1 kg, bei Kindern mit Verdauungsstörungen bei 2,0—2,9 g.

B. *Eigenschaften.* 1. Der Milchzucker tritt nach Tanret wie andere Zuckerarten (S. 74) in drei Modificationen auf. Bei gewöhnlicher Temperatur krystallisirt er aus Wasser in der Modification α mit 1 Mol. H_2O in weissen oder farblosen vierseitigen Prismen mit vierflächiger Zuspitzung. Sein Krystallwasser verliert er langsam erst bei 130°, schneller bei 140—145°, in höherer Temperatur wird er unter weiterer Wasserabgabe zersetzt. Er verwandelt sich nach Erdmann[3]) in wässriger Lösung bei 0° sehr langsam, bei 100° aber in wenigen Secunden in die Modification β.

---

[1]) Worm-Müller, Pflüger's Archiv **34**. 587. 1884. — C. Méhu, Journ. de Pharm. et de Chimie [5] **16**. 145; Chem. Centralbl. 1887. 1300. — G. Zülzer, Ueber alimentäre Glykosurie, Diss. Berlin 1893; Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1894. 485. — F. Gross, Orvosi hetilap 1892. 287; Jahrb. f. Thierch. 1892. 508.

[2]) J. Ney, Arch. f. Gynäkol. **35**. 239. 1889. — E. Luther, Vork. von Kohlenhydraten im normalen Harn, Diss. 1890. 48. — F. A. Lemaire, Ztschr. f. physiol. Ch. **21**, 453. 1895. — A. U. Zacharjewsky, Ztschr. f. Biol. **30**. 435. 1894.

[3]) C. Tanret, Bull. de la Soc. chim. [3] **15**. 349. 1896. — E. O. Erdmann, Dissertatio de saccharo lactico et amylaceo, Berolini 1855; Fortschritte der Physik 1855. 13; Ber. d. chem. Gesellsch. **13**. 2180. 1880.

Die Modification β, d. i. der Milchzucker der Lösungen, wird mit $^1/_2$ H_2O erhalten, wenn man eine Lösung von 1 Theil Zucker in 3 Theilen warmem Wasser einige Minuten auf 100° erwärmt und die Lösung unter lebhaftem Rühren in das 10 fache Volumen absoluten Alkohol einträgt, oder wenn man eine Milchzuckerlösung bei 85—86° bis zur beginnenden Krystallisation verdunstet und dann tüchtig umrührt.

Kocht man eine Milchzuckerlösung ein, so scheidet sich wasserfreier Milchzucker aus (Erdmann), Tanret's Modification γ. Die Krystallisation beginnt bei 108°. Man hält die Temperatur auf dieser Höhe, bis die Masse teigig geworden ist, vertheilt sie dann in siedendem Alkohol von 80%, saugt ab, wäscht mit warmem Alkohol und trocknet über Schwefelsäure. In wässriger Lösung geht diese Modification, wie α, in die von β über (Erdmann). Dieser Zucker schmilzt nach Lieben bei 203,5°

2. Der mit 1 Mol. H_2O krystallisirte (gewöhnliche) Milchzucker, Modification α, löst sich in 5—6 Theilen kaltem und in 2—4 Theilen kochendem Wasser, die Modification γ nach Erdmann in 3 Theilen Wasser.

Da α in Wasser schwerer löslich ist als γ, und γ in wässriger Lösung zu α wird, so krystallisirt aus einer gesättigten Lösung von γ Milchzucker der Art α aus.

3. Der Milchzucker dreht die Ebene des polarisirten Lichtes nach rechts; nach den übereinstimmenden Beobachtungen von Hesse und von Schmoeger ist $[\alpha]_D = + 52{,}5^0$ für das Hydrat bei 20° (also gleich dem des Traubenzuckeranhydrids), und würde für das Anhydrid des Milchzuckers 55,26° betragen.

Die specifische Drehung ist bis zu einem Gehalt von 56% unabhängig von der Concentration der Lösung, sinkt aber mit steigender Temperatur für jeden Temperaturgrad um 0,075°.

Nach Tanret beträgt $[\alpha]_D$ für die Modification α 92,6°, für β 56° (beide als wasserfrei genommen), für γ 34,5°, wobei sich die Drehung für α zu niedrig, für γ zu hoch ergeben haben dürfte. Erdmann fand mit minder reinen Präparaten die spec. Drehung von α 84°, von γ 39,5°, Schmoeger[1]) die spec. Drehung von α 1,6 mal so gross wie die von β. Eine in der Kälte bereitete Lösung des gewöhnlichen Milchzuckers besitzt also eine stärkere Drehung als β, und eine ebensolche Lösung des durch Einkochen wasserfrei erhaltenen Milchzuckers eine schwächere. Beide Lösungen nehmen aber bei Zimmertemperatur in längstens 8 St. die spec. Drehung von β (56° für den wasserfreien Zucker) an.

In Natronhydrat enthaltender Lösung dreht der Milchzucker schwächer als in neutraler; Ammoniak ertheilt einer Milchzuckerlösung sofort constante Drehung (Urech) und eine mit 0,1 proc. Ammoniak hergestellte Lösung zeigt sogleich die constante Drehung (Schulze und Tollens[2]); vergl. S. 75).

4. a. Der Milchzucker verbindet sich wie der Traubenzucker und Fruchtzucker mit Basen.

a. Die Verbindungen desselben mit den Alkalien sind in Alkohol unlöslich. Das Kupferreagens von Guignet schlägt den Milchzucker nicht nieder (S. 77); durch Bleiacetat und Ammoniak wird der Milchzucker gefällt (Brücke).

---

[1]) O. Hesse, Ann. d. Chem. **176**. 98. 1875. — M. Schmoeger, Ber. d. chem. Gesellsch. **13**. 1922. 1880. — Schmoeger, a. a. O. **13**. 1915 u. 2130.

[2]) Urech, Ber. d. chem. Gesellsch. **15**. 2132. — C. Schulze u. B. Tollens, Ann. d. Ch. **271**. 49.

b. Beim Erwärmen seiner Lösung mit essigsaurem Phenylhydrazin bildet sich Phenyllactosazon $C_{24}H_{32}N_4O_9$, das sich in 80—90 Thln kochendem Wasser löst und sich beim Erkalten in gelben kugelförmig angeordneten feinen kurzen Prismen absetzt; wenig des Lactosazons fällt erst beim Erkalten aus. Die Verbindung löst sich in heissem Alkohol etwas leichter als in Wasser und scheidet sich sehr langsam ab, ist unlöslich in Aether, Benzol, Chloroform und schmilzt bei 200° unter Gasentwickelung. Durch sehr verdünnte Schwefelsäure wird es in das Anhydrid $C_{24}H_{30}N_4O_8$ verwandelt, welches auch in heissem Wasser fast unlöslich ist und bei 223—224° ohne Gasentwickelung schmilzt (E. Fischer[1]).

c. Der Milchzucker bildet ein Mercaptal (S. 77), welches, wie andere Mercaptale auch, Fehling'sche Flüssigkeit nicht reducirt (E. Fischer[2]).

d. Beim Behandeln mit Benzoylchlorid und Natronlauge liefert der Milchzucker nach Skraup[3]) ein Benzoat mit höchstens 6 Mol. Benzoësäure.

5. Alkalihydrate oder alkalische Erden färben Milchzuckerlösung beim Erwärmen gelb, in alkalischer Lösung reducirt der Milchzucker Metalloxyde (Kupferoxyd, Wismuthoxyd, Quecksilberoxyd), wie Dextrose.

a. Kocht man eine Milchzuckerlösung mit viel Bleizucker 3—4 Minuten, so wird sie nach Rubner gelb bis bräunlich; fügt man der heissen Flüssigkeit darauf so lange Ammoniak zu, als sich der Niederschlag noch löst, so färbt sich die Flüssigkeit intensiv ziegelroth, und setzt endlich einen schön kirschrothen bis kupferfarbenen Niederschlag ab, während sich die überstehende Flüssigkeit entfärbt. Die Reaction tritt noch bei 0,05 und 0,02 % mit 10 cc Lösung ein. — Stellt man die Probe in der von F. Voit für Traubenzucker (S. 113) angegebenen Weise an und erhitzt vorsichtig, ohne zu kochen, so wird die Flüssigkeit nicht roth, sondern nur gelb bis braun, während Traubenzucker unter diesen Umständen eine Rothfärbung giebt. Denselben Unterschied hat Berberoff[4]) angegeben.

b. Die Reduction des Kupferoxyds findet schon in der Kälte statt, aber langsam; das Kupferoxydul, welches sich dabei in der Wärme oder Kälte ausscheidet, ist immer roth. Nach Soxhlet[5]) werden vom halben Mol. Milchzucker 3,7 Mol. CuO zu Oxydul reducirt und wird dieses Verhältniss weder von der Concentration der Zuckerlösung noch von der der Kupferoxydlösung beeinflusst. Das Reductionsvermögen des Milchzuckers für unverdünnte Fehling'sche Lösung macht also 70,3 % des Reductionsvermögens des Traubenzuckers aus. — Das Barfoed'sche Reagens (S. 105) wird vom Milchzucker nicht reducirt.

c. Für die Knapp'sche Quecksilberoxydlösung (S. 106) verhält sich das Reductionsvermögen des Traubenzuckers zu dem des Milchzuckers wie 100 : 64,9, für die Sachsse'sche Lösung wie 100 : 70,9 (Soxhlet).

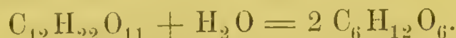
d. Der Milchzucker reducirt ammoniakalische Silberlösung in Gegenwart von fixem Alkali schon in der Kälte (Tollens[6]).

e. Eine alkalische Permanganatlösung wird vom Milchzucker augenblicklich reducirt (Baeyer[7]).

---

1) E. Fischer, Ber. d. chem. Gesellsch. **17**. 582. 1884; **20**. 828. 1887.
2) E. Fischer, daselbst **27**. 678. 1894.
3) Zd. Skraup, Monatshefte f. Ch. **10**. 398. 1889.
4) M. Rubner, Ztschr. f. Biologie **20**. 405. 1884. — F. Voit, Sitzungsber. d. Gesellsch. f. Morphol. u. Physiol. in München **5**. 66; Jahresb. f. Thierch. 1890. 186. — L. Berberoff, Diss. St. Petersburg 1893; Jahresb. f. Thierch. 1893. 570.
5) Soxhlet, Journ. f. prakt. Ch. [2] **21**. 260 u. 315. 1880.
6) B. Tollens, Berichte d. chem. Gesellsch. **15**. 1637.
7) Baeyer, Ann. d. Ch. **245**. 149.

6. Bei mehrstündigem Kochen von Milchzucker mit verdünnter Schwefel- oder Salzsäure wird derselbe vollständig in gleiche Moleküle Galactose und Traubenzucker verwandelt:



$$C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O = 2\,C_6H_{12}O_6.$$

a. Die spec. Drehung der Galactose wird nach Meissl ausgedrückt durch

$$[\alpha]_D = 83{,}883 + 0{,}0785\,p - 0{,}209\,t,$$

worin p den Procentgehalt, t die Temperatur der Lösung bedeutet. Die spec. Drehung des durch Säuren gespalteten Milchzuckers ist also grösser als die des Milchzuckers selbst. Die beobachtete Drehung fällt etwas geringer aus als die berechnete, weil ein Theil der Galactose durch die Säure in Levulinsäure verwandelt wird. — Die Anfangsdrehung einer ungefähr 10 proc. Lösung bei 20° beträgt nach Parcus und Tollens[1]) 117,5 %.

b. Durch das Kupferreagens von Guignet (S. 77) wird die Galactose leicht gefällt.

c. Das Phenylgalactosazon krystallisirt nach E. Fischer[2]) langsam in gelben viel derberen Nadeln als das Glucosazon, ist in heissem Alkohol und Aceton verhältnissmässig leicht, in Alkohol leichter als das Glucosazon löslich, fast unlöslich in Aether, Benzol, Chloroform und kaltem Wasser. In heissem Wasser löst es sich sehr wenig und fällt beim Erkalten in gelben Flocken aus. Von verdünntem (60 proc.) Alkohol wird es, wie das Glucosazon, in der Wärme leichter gelöst als von absolutem Alkohol. Es schmilzt bei 193—194°. Seine Lösung in Eisessig ist optisch inactiv und lässt sich dadurch sicherer von dem stark drehenden Glucosazon unterscheiden, als durch die mit Schwierigkeiten verbundene Bestimmung seines Schmelzpunkts.

d. Das Diphenylgalactosehydrazon schmilzt nach Stahel[3]) bei 157° und ist deshalb zur Unterscheidung von der entsprechenden Traubenzuckerverbindung (Schmelzpunkt 161°) nicht zu brauchen.

e. Die Galactose besitzt für alkalische Kupferhydratlösung annähernd dasselbe Reductionsvermögen wie die Levulose, der „invertirte" Milchzucker also dasselbe Reductionsvermögen wie der invertirte Rohrzucker (Soxhlet[4]); es nimmt das Reductionsvermögen des Milchzuckers durch die Spaltung desselben in seine Componenten zu, und zwar im Verhältniss von 100 : 136,9. Für die Knapp'sche Lösung ist dieses Verhältniss 100 : 138,7, für die Sachsse'sche aber 100 : 125,9.

f. Bei fortgesetztem Kochen des Milchzuckers mit Mineralsäuren entstehen neben kohlenartigen Huminsubstanzen Levulinsäure und Ameisensäure, wie aus der Dextrose. Salpetersäure invertirt den Milchzucker gleichfalls, oxydirt aber die Galactose darauf zu Schleimsäure, und diese weiterhin zu kohlenstoffärmeren Säuren.

g. Mit gewöhnlicher Hefe wird die Galactose unter Zusatz von Hefeabsud als Nährlösung nach Stone und Tollens zwar langsamer, aber ebenso vollständig vergohren wie andere gährungsfähige Zucker. Ebenso fanden E. Fischer und Thierfelder die Galactose vergährbar durch eine grosse Anzahl zum Theil rein gezüchteter Hefearten; nur mit Saccharomyces productivus und nach F. Voit[5]) mit S. apiculatus geht sie die Gährung nicht ein.

---

[1]) E. Meissl, Journ. f. prakt. Ch. [2] **22**. 97 u. 488. 1880. — E. Parcus u. B. Tollens, Ann. d. Chem. **257**. 168. 1890.

[2]) E. Fischer, Berichte d. chem. Gesellsch. **20**. 826. 1887; **23**. 385 u. 2119. 1890.

[3]) B. Stahel, Ann. d. Chem. **258**. 244. 1890.

[4]) Soxhlet, a. a. O. 273.

[5]) W. E. Stone u. B. Tollens, Ann. d. Chem. **249**. 260. 1888. — E. Fischer u. H. Thierfelder, Ber. d. chem. Gesellsch. **27**. 2031. 1894. — F. Voit, Ztschr. f. Biol. **28**. 278. 1891; **29**. 149.

h. Bei der Phloroglucinprobe (S. 70) giebt die Galactose einen Niederschlag, welcher sich wie der der Pentosen in Alkohol mit rother Farbe löst; diese Lösung unterscheidet sich aber von der der Pentosen dadurch, dass sie keinen Absorptionsstreifen zeigt (Tollens[1]).

7. Wie durch Säuren wird der Milchzucker in seine Bestandtheile gespalten nach E. Fischer[2]) durch Emulsin, durch einen wässrigen Auszug des Kefyr und durch ein Enzym (Lactase), welches der (von Rehlaender gezüchteten) lufttrocknen Milchzuckerhefe durch Chloroformwasser entzogen werden kann.

8. Durch die gewöhnliche Hefe wird der Milchzucker erst nach der Spaltung in seine Bestandtheile in Alkohol übergeführt; dagegen wird er durch Kefyr sowie durch besondere Hefearten und durch Spaltpilze (Fitz[3]) in Gährung versetzt.

Solche Hefen sind beschrieben worden von Duclaux, Adametz, Grotenfeld, Beijerinck, Kayser, sowie von Fischer und Thierfelder[4]). Der Gährung geht eine Spaltung des Milchzuckers durch die Lactase der Hefe voraus (E. Fischer). Setzt man Milchzucker der Einwirkung gewöhnlicher Hefe aus, so verschwindet ein kleinerer oder grösserer Theil; er wird durch die der Hefe beigemengten Spaltpilze, auch ohne Entwickelung von Kohlensäure, verzehrt. Um sich von der Gährungsunfähigkeit des Milchzuckers zu überzeugen, ist eine rein gezüchtete Hefe zu verwenden, z. B. nach F. Voit, Saccharomyces apiculatus. Ueber Reincultur von Hefe S. 109.

9. Wie andere Zucker geht auch der Milchzucker die Milchsäure- und Buttersäuregährung ein. Das Bacterium lactis aërogenes Escherich verwandelt den Milchzucker nach Baginsky[5]) in Essigsäure, Kohlensäure, Methan und Wasserstoff.

10. Milchzucker färbt sich bei der Penzoldt'schen Zuckerprobe (S. 108) nicht bläulich roth, sondern nur bordeauxroth. — Gegen Phloroglucin verhält sich der Milchzucker wie die Galactose (6. h.).

C. *Nachweis.* Zum Nachweis von Milchzucker direct im Harn dienen zwei Proben, die Rubner'sche Zuckerprobe in der von F. Voit (B. 5. a.) angegebenen Form und der Nachweis der Unvergährbarkeit des Zuckers.

Die der käuflichen Hefe beigemengten und die im Harn enthaltenen Spaltpilze können einen mehr oder minder grossen Theil des Milchzuckers zerstören. Der Gährungsversuch muss daher mit einer Hefereincultur und mit sterilisirtem Harn angestellt werden. Lusk[6]) sterilisirte Harn mit Erfolg durch zweistündiges Erhitzen

1) B. Tollens, Ber. d. chem. Gesellsch. 29. 1202.
2) E. Fischer, Ber. d. chem. Gesellsch. 27. 2991 u. 3481. 1894.
3) Fitz, Ber. d. chem. Gesellsch. 11. 45.
4) Duclaux, Annales de l'Institut Pasteur 1. 573. 1887. — Adametz, Centralbl. f. Bacteriol. 5. 116. 1889. — Grotenfeld, Fortschritte d. Med. 1889. 121. — Beijerinck, Centralbl. f. Bacteriol. u. Parasitenk. 6. 44. — Kayser, Annales de l'Institut Pasteur 1891. 395. — E. Fischer u. H. Thierfelder, a. a. O. 2032.
5) A. Baginsky, Ztschr. f. physiol. Ch. 12. 434. 1888.
6) Lusk, Ztschr, f. Biol. 28. 281. 1891.

im strömenden Dampf; zur Gährung verwendete F. Voit Saccharomyces apiculatus, welcher Traubenzucker zwar langsam aber vollständig vergährt; es wird aber ebenso gut jede andere Reincultur gewöhnlicher Hefe verwendbar sein. Wahrscheinlich lässt sich die Thätigkeit der Spaltpilze auch durch den Zusatz eines Fluorids zum Harn unterdrücken, ohne die Hefe wesentlich zu schädigen (S. 108), doch fehlen hierüber genaue Vorschriften.

Behält der Harn bei der Behandlung mit Hefe seine Reductionsfähigkeit, so ist damit allerdings nur die Gegenwart eines gährungsunfähigen Zuckers nachgewiesen und man ist daher nur dann berechtigt, die Gegenwart von Milchzucker anzunehmen, wenn noch andere Umstände dafür sprechen (Verfütterung von Milchzucker, Wöchnerinenharn). Pentose enthaltender Harn verhält sich in dieser Hinsicht wie lactosehaltiger. Zur Unterscheidung beider Zuckerarten kann einigermaassen die Phloroglucinreaction (B. 10) dienen.

Die Darstellung des Osazons ist bei Harn, welcher, wie der Wöchnerinenharn nur wenig Milchzucker enthält, wegen der grösseren Löslichkeit des Lactosazons aussichtslos; darum hat diese Probe auch v. Jaksch[1]) in mehreren Fällen versagt.

Auch das Barfoed'sche Reagens (B. 5. b.) ist nicht verwendbar, weil es von normalem Harn reducirt wird und die Reaction darum, auch bei Gegenwart von Milchzucker, nicht negativ ausfallen kann.

Um den Milchzucker mit Bestimmtheit nachzuweisen, bleibt weiter Nichts übrig als seine Reindarstellung. Hofmeister[2]) bediente sich dazu folgenden Verfahrens.

Der Harn wurde nicht eingedampft, weil der Milchzucker dabei zersetzt wird, sondern dieser direkt abgeschieden; der Harn wurde erst mit Bleizucker ausgefällt, der Niederschlag beseitigt, das Filtrat darauf mit Ammoniak gefällt und der Niederschlag ausgewaschen; Filtrat und Waschwasser wurden abermals mit essigsaurem Blei und Ammoniak gefällt u. s. f., bis das Filtrat keine Drehung mehr zeigte. Die gewaschenen Niederschläge wurden in der Kälte mit Schwefelwasserstoff zerlegt, die Flüssigkeit vom grössten Theil der frei gewordenen Salzsäure durch Schütteln mit Silberoxyd befreit, das Filtrat abermals mit Schwefelwasserstoff behandelt und das Filtrat nach Zusatz von kohlensaurem Baryt eingedampft. Bevor der Abdampfungsrückstand syrupös geworden war, wurde er mit so viel 90 proc. Alkohol versetzt, dass ein flockiger, sich schnell abscheidender Niederschlag entstand, in welchem keine reducirende oder optisch active Substanz enthalten war. Das Filtrat setzte darauf im Exsiccator Krystalle von Milchzucker ab, die vorsichtig mit verdünntem Alkohol gewaschen, unter Zusatz von Thierkohle aus Wasser umkrystallisirt und endlich durch Auskochen mit 60—70 proc. Alkohol von Salzen und von anhaftender schmieriger Substanz befreit wurden.

Es ist schwer, den Milchzucker von beigemengten Salzen zu befreien. Dazu kann das S. 137 angegebene Verfahren von Tanret[3]) zur Darstellung der Modification γ dienen.

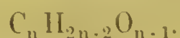
Zur Erkennung des isolirten Milchzuckers kann dienen seine Krystallform, seine Löslichkeit in Wasser und Unlöslichkeit in starkem Alkohol, die Temperatur, bei welcher er sein Krystallwasser verliert,

---

[1]) v. Jaksch, Ztschr. f. klin. Med. 11. 25. 1886.
[2]) F. Hofmeister, Ztschr. f. physiol. Ch. 1. 105.
[3]) C. Tanret, Bull. de la Soc. chim. [3] 15. 357. 1896.

ferner sein Schmelzpunkt, sein negatives Verhalten gegen das Barfoed-sche Reagens, während er alkalische Kupferlösung reducirt, sein Verhalten gegen das Rubner'sche Reagens und seine Gährungsunfähigkeit. Für diese Gährungsprobe lässt sich käufliche Hefe verwenden, da auch diese mit Milchzucker keine Kohlensäure entwickelt. Es kann ferner die spec. Drehung des Zuckers ermittelt werden, wozu in ein und derselben Lösung der Grad der Drehung und durch Titriren der Gehalt an Zucker zu bestimmen ist. Auch kann man untersuchen, ob bei (mehrstündigem) Erhitzen der Lösung mit 2—5 % Salzsäure oder Schwefelsäure die Drehung wächst; um einer Aenderung der Concentration vorzubeugen, nimmt man das Erhitzen im geschlossenen Rohr vor, oder man stellt, wenn man gekocht hat, das ursprüngliche Gewicht oder Volumen der Lösung wieder her. Endlich lässt sich der Milchzucker auch daran erkennen, dass er durch Salpetersäure zu schwer löslicher Schleimsäure oxydirt wird.

III. Thierisches Gummi.



$C_n H_{2n-2} O_{n-1}$.

Synonyme: Achrooglykogen. Harndextrin.

Die Substanz ist von Landwehr[1]) entdeckt und beschrieben worden.

A. *Vorkommen.* Das thierische Gummi kommt nach Landwehr stets, aber in verschiedenen Mengen im Harn vor, was bei der Untersuchung der Benzoësäureneester aus Harn (S. 64) bestätigt wurde. Luther[2]) bestimmte die Menge des unvergährbaren Kohlenhydrats (Dextrin und Isomaltose) im normalen Harn mittelst der Furfurolprobe zu 0,136 %. Gewisse chronische Krankheiten scheinen eine Vermehrung der Substanz herbeizuführen.

B. *Eigenschaften.* 1. Scheint ein Pentosan zu sein. Es bildet ein weisses, mehlartiges, geschmack- und geruchloses Pulver, nach dem Trocknen bei 120° von der oben angegebenen Zusammensetzung; vacuumtrocken enthält es (auf C_6) 1 Mol. H_2O mehr. An feuchter Luft wird es gummiartig durchsichtig. Es löst sich, wenn es nicht erhitzt war, in Wasser zu einer schwach gelblichen, nicht opalisirenden syrupösen Flüssigkeit, welche stark schäumt und den Schaum tagelang stehen lässt. Die bei 120° getrocknete Substanz quillt in Wasser blos an. Durch Kochen verliert die Lösung, namentlich bei gleichzeitiger Gegenwart von Säuren oder Alkalien ihre colloide Beschaffenheit. In Alkohol und in Aether ist es unlöslich. Aus der wässrigen Lösung

---

1) H. A. Landwehr, Ztschr. f. physiol. Ch. **6**. 74. 1882; **8**. 122. 1883/84; **9**. 368. 1895; Pflüger's Archiv **39**. 193. 1886; **40**. 35. 1887.

2) Landwehr, Centralbl. f. d. med. Wiss. 1885. 369. — E. Luther, Vorkommen von Kohlenhydraten im normalen Harn. Diss. 1890. 42.

wird es durch 3—4 Volumen Alkohol gefällt, in Flocken aber erst beim Erwärmen auf ungefähr 60°; Lösungen reiner Substanz geben dabei erst auf Zusatz einer Spur Kochsalz einen Niederschlag; Salzsäure vermindert die Fällbarkeit der Substanz durch Alkohol. Eisessig fällt die concentrirte wässrige Lösung. Mit Eiweiss kann das thierische Gummi nach Mörner[1]) eine durch Essigsäure fällbare Mischung geben. Sättigen der wässrigen Lösung mit Ammonsulphat fällt das thierische Gummi, mit Natriumsulphat nicht.

Das thierische Gummi aus Schleim oder Pseudomucin der Ovarialcysten enthält nach Fr. Müller[2]) stets Stickstoff.

2. Die Lösung dreht die Ebene des polarisirten Lichtes schwach rechts (Landwehr). An einer 0,5 proc. Lösung ist nach Freund[3]) eine Drehung nicht wahrzunehmen.

3. Durch Jod wird das Achrooglykogen nicht gefärbt. Methylviolett färbt die Substanz in unreinem Zustand roth, in reinem nicht.

4. Mit den Alkalien und alkalischen Erden geht das thierische Gummi in Alkohol unlösliche Verbindungen ein. — Durch Bleizucker wird es nicht gefällt, wohl aber durch Bleiessig und Ammoniak; nach dem Zersetzen des Niederschlags mit Schwefelwasserstoff bleibt das Schwefelblei suspendirt und lässt sich durch Filtriren nicht entfernen. — Eine mit Eisenchlorid versetzte Lösung des Gummis scheidet beim Hinzufügen von Ammoniak sowie beim Schütteln mit kohlensaurem Kalk eine Verbindung des Gummis mit Eisenoxyd aus. — Macht man eine mit Kupfervitriol vermischte Lösung der Substanz mit Natronlauge stark alkalisch, so fällt eine Verbindung derselben mit Kupferoxyd als weissblauer flockiger Niederschlag aus, welcher bei nicht zu langem Stehen seine Farbe behält und nicht, wie Kupferhydrat, schwarz wird.

Durch Thierkohle filtrirter Harn löst nach Luther[4]) auf Zusatz von Natronlauge Kupferhydrat mit hellblauer Farbe und scheidet beim Stehen kein Kupferoxydul ab, sondern bläulich-weisse Flocken.

5. Durch Kochen mit verdünnten Säuren wird das thierische Gummi sehr langsam in eine zuckerartige Substanz (Gummose) verwandelt. Dieselbe reducirt alkalische Kupferoxydlösung weit langsamer als Traubenzucker, ist nicht krystallisirt erhalten worden, schmeckt schwach süss und zugleich bitter, ist in Alkohol schwerer löslich als in Wasser und gährt mit Hefe nicht.

6. Speichel, Diastase, Pankreas- und Leberferment verändern das Gummi nicht; durch Hefe wird es nicht in Gährung versetzt.

---

1) K. A. H. Mörner, Skandin. Archiv 6. 334.

2) Fr. Müller, Sitzungsber. d. Gesellsch. zur Beförderung der gesammten Naturw. zu Marburg 1896. 73.

3) E. Freund, Centralbl. f. Physiol. 6. 346. 1892.

4) Luther, a. a. O. 50.

7. Bei anhaltendem Kochen mit Natronlauge färbt sich die Lösung gelb bis braun. Das Gummi reducirt Fehling'sche Flüssigkeit bei 10 Minuten langem Verweilen im Wasserbad nicht, aber allmählich bei längerem Erhitzen. Silbernitrat wird durch dasselbe langsam reducirt, beim Kochen mit ammoniakalischer Silberlösung scheidet sich ein Silberspiegel ab.

8. Durch Salpetersäure wird das Gummi zu Oxalsäure oxydirt. Salzsäure soll es in Levulinsäure überführen.

9. Mit α-Naphtol giebt es nach Baisch[1]) eine starke Furfurolreaction.

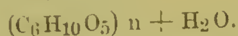
C. *Darstellung.* Das Harndextrin wird bei der Behandlung des Harns mit Benzoylchlorid und Natronlauge (S. 64) zugleich mit den anderen Kohlenhydraten des Harns als Benzoat gefällt. Für die Darstellung des thierischen Gummis allein hat Landwehr folgendes Verfahren angegeben.

An der Substanz reiche Harne werden mit Natronlauge stark alkalisch gemacht und filtrirt. In das Filtrat giesst man dann so lang Kupfervitriollösung, bis sich der in einer Probe erzeugte Kupferniederschlag beim Kochen schwärzt. Die Flüssigkeit muss dabei immer stark alkalisch erhalten werden. Der Niederschlag wird salzfrei gewaschen, auf Papier getrocknet, in möglichst wenig Salzsäure gelöst, die Lösung mit 3 Volumen absolutem Alkohol versetzt und auf 60° erwärmt. In dem sauren Alkohol löst sich das Harndextrin nicht unschwer und man erleidet daher bei diesem Verfahren erhebliche Verluste. Freund vermindert sie dadurch, dass er die saure Reaction der Lösung mit Ammoniak gerade so weit abgestumpft, dass das Kupfersalz noch in Lösung bleibt. Den feinflockigen Niederschlag wäscht man mit Alkohol, löst ihn in wenig Wasser, fällt wieder mit Alkohol und trocknet den Niederschlag im Vacuum über Schwefelsäure. Es ist schwer und vielleicht überhaupt nicht möglich, die Substanz auf diese Weise ganz kupferfrei zu erhalten.

Gummiarme Harne werden bis zur bleibenden Trübung mit (3—4 Vol.) Alkohol versetzt und bis zur Bildung von Flocken erwärmt. Der Niederschlag wird in wenig Wasser gelöst, das Filtrat mit Kupfervitriol und Natronlauge ausgefällt und der Niederschlag weiter verarbeitet wie der direkt aus dem Harn erhaltene.

D. *Nachweis.* Das Gummi giebt mit Kupferhydrat eine in Natronlauge unlösliche, sich beim Kochen in der alkalischen Flüssigkeit nicht schwärzende Verbindung und wird durch anhaltendes Kochen mit verdünnter Schwefelsäure, aber nicht durch Speichel in eine alkalische Kupferlösung reducirende Substanz verwandelt; vom Glykogen unterscheidet es sich sofort dadurch, dass es sich durch Jod nicht färbt.

IV. Glykogen, Erythrodextrin.



$(C_6H_{10}O_5)\,n + H_2O$.

A. *Vorkommen.* Im Harn von Diabetikern fand E. Reichardt wiederholt nach Abnahme des Zuckers oder gänzlichem Verschwinden desselben aus dem Harn (z. B. nach dem Gebrauch von Karlsbader Wasser) eine dextrinartige, sich mit Jod braunroth färbende, von Reichardt als Dextrin bezeichnete Substanz (Erythrodextrin oder Glykogen). Der Harn war dadurch ausgezeichnet, dass er bei Anstellung der Trommer'schen Probe das Kupferoxyd nur nach langem Kochen reducirte. Den gleichen Befund machte Leube[2]) an den Harnen zweier Diabetiker;

1) K. Baisch, Ztschr. f. physiol. Ch. 19. 359. 1894.

2) E. Reichardt, Archiv d. Pharm. [3] 5. 502. 1874. — W. Leube, Virchow's Archiv 113. 391. 1888.

er betrachtet den Körper als Glykogen. Im Harn Gesunder und in dem eines an Diabetes insipidus Leidenden fand Leube die Substanz nicht. Nach den angegebenen Eigenschaften lässt sich nicht entscheiden, ob es sich um Glykogen oder Erythrodextrin gehandelt hat, aber aus physiologischen Gründen ist die Gegenwart von Glykogen im Harn Diabetischer viel wahrscheinlicher, als die von Erythrodextrin.

B. *Eigenschaften.* Nach den übereinstimmenden Analysen von Külz und Borntraeger, von Fränkel und von mir kommt dem bei 100—110⁰ getrockneten Glykogen die Formel 6 $C_6H_{10}O_5$, H_2O zu. Aus der Gefrierpunktsbestimmung leitet Sabanejew für das Glykogen die Formel 10 $C_6H_{10}O_5(+H_2O)$ ab. — Dem Erythrodextrin schreiben Brown und Morris die Zusammensetzung 14 $C_6H_{10}O_5$, H_2O, Lintner und Düll auch auf Grund der kryolytischen Bestimmung 36 $C_6H_{10}O_5$, H_2O. — Beide Kohlenhydrate liefern bei der Verzuckerung mit Säure dieselbe Menge Zucker (Huppert[1]).

Sie bilden beide weisse pulvrige Substanzen; das mit Alkohol und mit Aether gewaschene und im Vacuum getrocknete Glykogen bildet ein Mehl. Das Erythrodextrin ist hygroskopisch und klebt, das Glykogen nicht. Beide lösen sich in Wasser, das Dextrin liefert klare Lösungen, während die des Glykogens opalisiren.

Die spec. Drehung des Glykogens ist von mir zu $[\alpha]_D = 196{,}6^0$ bestimmt worden, womit die verlässlichen Bestimmungen Anderer im Mittel übereinstimmen; die des Erythrodextrins beträgt nach Lintner und Düll gleichfalls 196^0.

Aus der eisenchloridhaltigen Lösung wird das Glykogen nach Landwehr durch Neutralisiren der Lösung mit kohlensaurem Natron oder Kalk in Verbindung mit Eisenoxydhydrat niedergeschlagen. Es wird ferner gefällt durch Barythydrat (Chittenden, Abeles), durch Bleiessig (Bizio, Chittenden), und nach Nasse durch Kalkhydrat, Bleioxydnatron, Zinnoxydulnatron, schwefelsaures Kupferoxyd-Ammonium, und Gerbsäure in Verbindung mit dem Fällungsmittel. In Eisessig ist das Glykogen unlöslich (Bizio) und wird nach Lehmann durch starke Essigsäure aus seiner concentrirten Lösung niedergeschlagen; ebenso wird es nach Nasse durch Propionsäure und Buttersäure gefällt. Wie das Glykogen verhält sich aber gegen diese Fällungsmittel nach Nasse auch das Erythrodextrin (das Achroodextrin und die lösliche Stärke). — Auch Phosphorwolframsäure fällt aus salzsaurer Lösung beide Kohlenhydrate (Huppert[2]). Verdünnte Trichloressigsäure schlägt das Glykogen nicht nieder (Fränkel), es lässt sich so von Eiweisskörpern, wenn auch nicht ganz vollständig, trennen.

Das Glykogen und das Erythrodextrin färben sich mit Jod kastanienbraun; Neutralsalze (Natriumsulphat, Chlornatrium, Chlorammon etc.) verstärken nach Nasse die Färbung, Jodkalium bringt sie zum Verschwinden, Natriumacetat führt sie in blauviolett über. Die rothe Lösung zeigt kein Spectrum, sondern nur eine allgemeine gegen das violette Ende zunehmende Verdunklung (Brücke, Huppert[3]). Versetzt man gleich concentrirte Lösungen beider Kohlenhydrate mit gleich viel Jod, so sind Farbe und spectrales Verhalten beider gleich. Durch Kochen mit verdünnter Schwefelsäure oder Salzsäure, ebenso durch Speichel und andere saccharificirende Enzyme erhält man aus ihnen bald reducirenden Zucker.

---

[1]) E. Külz u. A. Borntraeger, Pflüger's Archiv **24.** 26. 1881. — S. Fränkel, daselbst **52.** 128. 1892. — Huppert, Ztschr. f. physiol. Ch. **18.** 138. — Sabanejew, Ztschr. f. physikal. Ch. **5.** 192. — Brown u. Morris, Chem. Centralbl. 1889. **2.** 123. — C. J. Lintner u. G. Düll, Berichte d. chem. Gesellsch. **26.** 2537. 1893.

[2]) H. A. Landwehr, Ztschr. f. physiol. Ch. **8.** 168. 1883. — N. H. Chittenden, Ann. d. Ch. **178.** 269. 1875. — M. Abeles, Wiener med. Jahrb. 1877. 551; Jahresb. f. Thierch. **7.** 63. — G. Bizio, Comptes rendus **65.** 175; Jahresb. f. Ch. 1867. 741. — O. Nasse, Pflüger's Archiv **37.** 352. 1885. — Bizio, Comptes rendus **62.** 675; Jahresb. f. Ch. 1866. 753. — C. G. Lehmann, Handb. d. physiol. Ch., 2. Aufl. 1859. 152. — Huppert, a. a. O. 147.

[3]) O. Nasse, a. a. O. 585. — Brücke, Sitzungsb. d. k. Akad. d. Wiss. **63.** 2. Abth. 216. 1871. — Huppert, a. a. O. 143.

C. *Nachweis.* Reichardt verfuhr folgendermaassen. Der Harn wurde bis zum Syrup verdunstet und mit Kalihydrat und absolutem Alkohol versetzt, wodurch eine starke Trübung eintrat, welche sich ähnlich dem Zucker-Kali am Boden vereinigte, so dass die überstehende Flüssigkeit leicht abgegossen werden konnte. Dieser Niederschlag wurde mehrmals mit absolutem Alkohol abgewaschen, dann in Essigsäure gelöst, was leicht von Statten ging, und die Lösung nochmals mit absolutem Alkohol versetzt. Das „Dextrin" fiel dabei wieder aus, während essigsaures Kali und Zucker in Lösung blieben. Dieser zweite Niederschlag wurde wieder mit Alkohol gewaschen und getrocknet. Nach dem Zerreiben stellte er ein weisses geschmackloses Pulver dar, dessen wässrige Lösung nur bei anhaltendem Kochen die Trommer'sche Probe gab, sogleich aber nach dem Erwärmen mit verdünnter Schwefelsäure. Jodwasser färbte die Substanz braunroth. Die Substanz enthielt noch eine Spur phosphorsauren Kalk; die aschefreie Substanz erwies sich nach der Formel $C_{12}H_{20}O_{10}$ zusammengesetzt (gefunden 44,39 % C, 6,50 H, 49,11 O; berechnet 44,44 C, 6,17 H, 49,39 O).

Leube fällte den frisch gelassenen Harn mit Alkohol und befreite den Niederschlag, wenn er aus diabetischem Harn gewonnen war, durch Waschen mit Alkohol oder Lösen in Wasser und Fällen durch Alkohol vom Zucker. Einzelne Theile des Niederschlags färbten sich durch Jod dunkelbraun. Der völlig zuckerfreie wässrige Auszug des Niederschlags wurde durch ½stündiges Kochen mit ungefähr 10 % Schwefelsäure in Zucker verwandelt, welcher nach dem Neutralisiren mit Natronlauge Fehling'sche Flüssigkeit reducirte, Phenylglykosazon lieferte, aber, wohl wegen seines starken Salzgehalts, mit Hefe nicht gohr.

§ 7. Phenole.

Im normalen Harn der Menschen und der Thiere, namentlich der Pflanzenfresser, kommen mehrere Phenole vor, vorzugsweise Phenol, Parakresol und Brenzkatechin, das Parakresol in bei Weitem überwiegender Menge (bei Mensch und Pferd); aber nicht als solche, sondern der Hauptsache nach oder allein als Aetherschwefelsäuren (§ 2. a. 3. A; S. 12.), wie zuerst Buliginsky und Hoppe-Seyler[1]) dargethan haben und in kleinerer Menge als Glykuronsäureverbindungen. An diese schliessen sich an das Indoxyl und das Skatoxyl. (Dieser §, V u. VI.) Auch ein geringer Theil der aromatischen Oxysäuren (§ 24, I) ist an Schwefelsäure gebunden.

Das Phenol, welches in dem ursprünglich phenolfreien Pferdeharn bei der Fäulniss desselben als solches auftritt, verdankt seinen Ursprung nicht der Phenolätherschwefelsäure, sondern den beiden aromatischen Oxysäuren, dagegen wird bei der Fäulniss der Brenzkatechinschwefelsäure Brenzkatechin frei (Preusse). Die unter normalen Verhältnissen im Harn auftretenden Phenole entstehen entweder bei der Fäulniss von Eiweiss im Darm und, unter pathologischen Verhältnissen, an anderen Körperstellen oder entstammen Benzolderivaten der Pflanzennahrung (Baumann). Dem Körper direkt zugeführte Phenole erscheinen im Harn als Aetherschwefelsäuren und verursachen eine Vermehrung dieser

1) A. Buliginsky, Hoppe-Seyler's Med. chem. Untersuchungen 1866. 234. — Hoppe-Seyler, Pflüger's Archiv 5. 470. 1872.

auf Kosten der Sulphatschwefelsäure (S. 12). Reicht die verfügbare Schwefelsäure zur Bindung des Phenols nicht aus, so liefert der Ueberschuss Phenolglykuronsäure (§ 14) (Baumann, Schmiedeberg[1]). Der Harn enthält dann neben viel phenolartiger Substanz relativ wenig Aetherschwefelsäure.

Von sehr vielen aromatischen Verbindungen ist bekannt, dass sie als Aetherschwefelsäuren im Harn auftreten. Einige verbinden sich direkt mit Schwefelsäure, so das Phenol $C_6H_5 . OH$, die einatomigen substituirten Phenole (die Kresole $CH_3 . C_6H_4 . OH$, das Guajacol $HO . C_6H_4 . OCH_3$, Thymol, Chlorphenol, Tribromphenol etc.), die mehratomigen Phenole (die Isomeren Hydrochinon, Brenzkatechin, Resorcin $C_6H_4(OH)_2$, Pyrrogallussäure $C_6H_3(OH)_3$), sowie die Protokatechusäure $(HO)_2 . C_6H_3 . COOH$ u. A. Andere werden gleichzeitig oxydirt: das Benzol C_6H_6 zu Phenol, das Phenol zu Hydrochinon und Brenzkatechin, das Thymol zu Thymohydrochinon, das Phenetol $C_2H_5 . O . C_6H_5$ zu Paraoxyphenetol $C_2H_5 . O . C_6H_4 . OH$, das Anilin $C_6H_5 . NH_2$ zu Paraamidophenol $HO . C_6H_4 . NH_2$, Acetanilid $C_6H_5 . NH . CO . CH_3$ zu Acetylparaamidophenol $HO . C_6H_4 . NH . CO CH_3$ etc. Wieder andere erleiden zugleich eine tiefer greifende Zersetzung; so wird die Paraoxybenzoësäure $HO . C_6H_4 . COOH$ zu Phenol, die Protokatechusäure $(HO)_2 . C_6H_3 . COOH$ zu Brenzkatechin. Die ältere Literatur über diesen Gegenstand findet sich zusammengestellt von Kobert in Schmidt's Jahrbüchern **189**. 219; **192**. 115; **193**. 117; **194**. 3 und 229.

Phenolester, wie kohlensaures, bernsteinsaures, benzoësaures, salicylsaures Phenol (Salol) werden nach Lesnik im Körper in ihre Bestandtheile zerlegt und das Phenol geht als Aetherschwefelsäure in den Darm über. Ebenso verhält sich nach Jasieński[2]) Phenolwismuth $(C_6H_5 . O)_2 OHBi, Bi_2O_3$ und das diesem analog zusammengesetzte Metakresolwismuth.

Nach Verabreichung von Thiophen an Hunde tritt zwar, nach Heffter, ein Thiophenabkömmling im Harn auf, aber es sind weder die Aetherschwefelsäuren vermehrt noch ist Glykuronsäure nachweisbar. — Das Pyridin C_5H_5N erscheint nach His[3]) im Harn des Hundes als Methylpyridylammonhydrat $C_5H_5N . (CH_3) . OH$ wieder.

Im Harn der Neugeborenen finden sich keine oder nur wenig Phenole (Senator u. A.), weil bei ihnen der Darminhalt steril ist (Schild), und ebenso wenig konnten im Harn von Thieren, deren Darm steril erhalten wurde, von Nuttall und Thierfelder Phenol, Kresol, Indol, Skatol, Brenzkatechin und die gewöhnlichen Oxysäuren nachgewiesen werden. Bei allen lokalen Eiterungen und Verjauchungen erscheinen Phenole in grösserer Menge im Harn. — Von 33 Arten meist pathogener Bacillen, welche Lewandowski[4]) auf ihr Vermögen, Phenol und Indol zu bilden, untersucht hat, lieferten 9 beide Phenole zugleich und 6 nur Indol, aber kein Phenol. — Es braucht nicht alles im Körper gebildete Phenol im Harn zu erscheinen. — Ueber die Umstände, welche die Ausscheidung der Phenole beeinflussen, vergl. bei Aetherschwefelsäure S. 12.

---

1) Preusse, Ztschr. f. physiol. Ch. **2**. 334. 1878. — Baumann, Pflüger's Archiv **13**. 299. 1876. — O. Schmiedeberg, Archiv f. exper. Pathol. **14**. 306. 1881.

2) M. Lesnik, Archiv f. exper. Pathol. **24**. 167. 1887. — J. Jasieński, Arch. des sc. biol. **2**. 246. 1893.

3) A. Heffter, Pflüger's Archiv **39**. 420. — W. His, Archiv f. exper. Pathol. **22**. 253.

4) H. Senator, Ztschr. f. physiol. Ch. **4**. 1. 1879. — W. Schild, Ztschr. f. Hygiene **19**. 113. 1895. — G. H. F. Nuttall u. H. Thierfelder, Ztschr. f. physiol. Ch. **21**. 73. 1896. — A. Lewandowski, Deutsche med. Wochenschr. 51. 1890. 1186.

Die von Baumann entdeckten und namentlich von ihm untersuchten Phenolätherschwefelsäuren sind nicht flüchtig, werden von Essigsäure nicht angegriffen, aber von Mineralsäuren in die betreffenden Phenole und Schwefelsäure zersetzt. Auch die Phenolglykuronsäuren werden durch Säuren in ihre Bestandtheile zerlegt. Von den freien Phenolen sind die einatomigen (Phenol, die Kresole) flüchtig, die mehratomigen (Brenzkatechin, Hydrochinon) dagegen nicht.

I. Phenol,



$C_6H_5 . OH$.

Synonyme: Phenylalkohol, Phenylsäure, Carbolsäure.

A. *Vorkommen.* Das Phenol ist zuerst von Staedeler im Kuhharn aufgefunden worden; es kommt (im Pflanzenfresserharn) nur ausnahmsweise als solches vor (Hoppe-Seyler), zumeist als die der Phenolsulfosäure $HO . C_6H_4 . SO_2 . OH$ isomere Aetherschwefelsäure $C_6H_5 . O . SO_2 . OH$. Im Menschenharn sind nur sehr geringe Mengen Phenol enthalten, in der Tagesmenge nach Munk 0,017—0,51 g, im Mittel 0,03 g, nach Kossler und Penny 0,07—0,106 g bei gemischter Kost, reichlicher nach Pflanzennahrung, im Hunger nach Munk nicht weniger als nach Nahrungsaufnahme. Im Harn der Pflanzenfresser finden sich bei Weitem grössere Mengen Phenol. Die Phenolausscheidung nimmt zu nach innerlicher und äusserlicher Anwendung von Phenol, sowie nach Darreichung von Benzol, welches zu Phenol oxydirt wird, auch von Paraoxybenzoësäure, welche im Körper, wie bei der Fäulniss, in Phenol und Kohlensäure zerfällt. In Krankheiten vermehrt ist das Phenol nach E. Salkowski sowie nach L. Brieger bei Stauungen des Darminhalts, namentlich in den unteren Theilen des Dünndarms und im Dickdarm, bei Peritonitis, bei Eiterungen, namentlich wenn der Eiter stinkend wird, bei Pyämie, nach Blendermann bei der Phosphorvergiftung. Reichlich erscheint es auch nach der Verfütterung von Tyrosin (Brieger, Blendermann[1]). Indicanreicher Harn enthält auch zugleich viel Phenol, phenolreicher ist aber nicht immer reich an Indican.

Strasser bestimmte mittelst des Verfahrens von Kossler und Penny in der Tagesmenge Harn bei schwerer Anämie, Phosphorvergiftung, Ileus, Cystitis, Lebercirrhose 36—50 mg, bei putrider Bronchitis 51 mg, Peritonitis 56, lienaler Leukämie 62—81, Diabetes ohne Aceton 91, Gesichtserysipel 96, Nitrobenzol-

---

[1]) Staedeler, Ann. d. Chem. u. Pharm. 77. 17. — I. Munk, Du Bois' Archiv 1880. Suppl. 23; Virchow's Archiv 131. Suppl. 110. 1893. — A. Kossler und E. Penny, Ztschr. f. physiol. Ch. 17. 139. 1892. — E. Salkowski, Ber. d. chem. Gesellsch. 9. 1595; 10. 842. — L. Brieger, Ztschr. f. physiol. Ch. 2. 241. 1878. — Blendermann, Ztschr. f. physiol. Ch. 6. 240. 1882. — Brieger, Ztschr. f. physiol. Ch. 2. 256. — Blendermann, a. a. O. 249.

vergiftung 97, Pneumonie im Mittel aus 4 Beobachtungen 110 (68—188), Typhus während des Fiebers 142, 176 und 235, nach Ablauf des Fiebers 35—59, Pyopneumathorax 194, Gangrän des Fusses 261 mg. Bei Diabetes mit viel Aceton und Acetessigsäure wurde 287 (177—694) ermittelt; hier ist offenbar das Aceton mit bestimmt worden. — Russo[1]) fand bei der Untersuchung des Harns von 30 Kranken 225 mg als Maximum in der Tagesmenge. Bei Lebercirrhose ohne Icterus vermisste er, wohl wegen Unzulänglichkeit des Verfahrens, das Phenol vollständig, bei Lungentuberkulose war es nur spärlich oder gar nicht nachweisbar. Bei Erkrankungen des Darms war es nur bei gleichzeitiger Stauung des Darminhalts vermehrt. Bei Diabetes mellitus fand sich am Meisten, bei Diabetes insipidus keins.

Nach der Zufuhr von Benzol erscheint zwar constant Phenol im Harn, jedoch, nach Demetz, in sehr wechselnden Mengen auch bei derselben Person an auf einander folgenden Tagen. — Vom verabreichten Phenol werden beim Menschen höchstens 2—3 % wieder ausgeschieden (I. Munk), beim Hunde verschwinden, je nach der Grösse der Gabe, 42—70 % nach Auerbach, 1/2—3/4 nach Marfori, beim Pferd 41—54 % (I. Munk[2]).

Da das Kresol nach Brieger sowohl im Menschenharn wie, nach Baumann und Brieger[3]), im Pflanzenfresserharn den Hauptbestandtheil der Phenole ausmacht, das Kresol aber zugleich mit dem Phenol bestimmt wurde, so gelten die Angaben über den Gehalt des Harns an „Phenol“ für beide Phenole.

B. *Eigenschaften.* 1. Das reine Phenol krystallisirt in langen, farblosen Nadeln, schmilzt bei 40—41 °, siedet bei 182—183 °, löst sich schwer in kaltem Wasser, leicht in heissem, ist mit Alkohol und mit Aether in jedem Verhältnisse mischbar. Seine wässrige Lösung färbt Lackmus nicht, oder nur schwach roth. Es destillirt leicht mit Wasserdampf über.

Petroläther nimmt nach Jacobson[4]) beim Schütteln in der Kälte nur Spuren von Phenol auf, dagegen geht es reichlich in Aether, Essigäther, Benzol und Chloroform über. Die Benzol- und Aetherrückstände geben die schönsten Reactionen; das Benzol verdient den Vorzug, weil es sich vollständig vom Wasser trennt.

2. Das Phenol löst sich leichter als in Wasser in Lösungen der Alkalihydrate und der Hydrate der alkalischen Erden, und bildet mit diesen salzartige Verbindungen von stark alkalischer Reaction.

Die Verbindungen werden durch Kohlensäure oder doppelt kohlensaure Salze unter Abscheidung des Phenols zersetzt. Die kohlensauren Alkalien werden vom Phenol nicht bei gewöhnlicher Temperatur, wohl aber in der Wärme unter Bindung des Phenols zerlegt (Baumann[5]); einer in der Kälte mit kohlensaurem Alkali übersättigten Phenollösung lässt sich demnach das Phenol durch Aether entziehen, einer mit Alkalihydrat übersättigten dagegen nicht.

---

1) A. Strasser, Ztschr. f. klin. Med. **24**. 543. — A. Russo, Rivista clin. e terap. October 1888; Centralb. f. klin. Med. **10**. 306.

2) F. Demetz, Ueber das Vorkommen von Phenol im menschlichen Harn etc. Diss. Erlangen 1887; Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1888. 526. — A. Auerbach, Virchow's Archiv **77**. 226. 1879. — P. Marfori, Arch. di Farmac. e Terap. **2**. 1894; Jahresb. f. Thierch. 1894. 98. — I. Munk, Du Bois' Archiv 1881. 460.

3) L. Brieger, Ztschr. f. physiol. Ch. **4**. 204. — Baumann u. Brieger, Ber. d. chem. Gesellsch. **12**. 804.

4) W. Jacobson, Beitrag zum Nachweis des Phenols im Thierkörper. Diss. Dorpat 1885; Ztschr. f. analyt. Ch. **25**. 607. 1886.

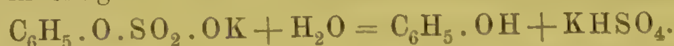
5) Baumann, Ber. d. chem. Gesellsch. **10**. 686.

3. Wird gepulvertes, pyroschwefelsaures Kalium mit überschüssigem Phenolkalium in concentrirter, wässriger Lösung längere Zeit auf 60—70° erhalten, so bildet sich nach Baumann[1]) phenolschwefelsaures Kali:



$$C_6H_5 . OK + K_2S_2O_7 = C_6H_5 . O . SO_2 . OK + K_2SO_4.$$

Das Salz bildet farblose, glänzende, sich fettig anfühlende Plättchen, löst sich leicht in Wasser, sehr schwer in kaltem, leichter in heissem Alkohol. Im Gegensatz zu dem ihm isomeren phenolsulfonsauren Kali färbt es sich mit Eisenchlorid nicht. Beim Aufbewahren an feuchter Luft zersetzt sich das Salz sehr langsam, beim Erhitzen mit Wasser über 100° in einigen Stunden in Phenol und saures schwefelsaures Kali:



$$C_6H_5 . O . SO_2 . OK + H_2O = C_6H_5 . OH + KHSO_4.$$

Dieselbe Zersetzung erleidet es, wenn eine wässrige Lösung desselben in der Kälte mit einer starken Mineralsäure vermischt wird; beim Erwärmen mit verdünnter Salzsäure (selbst 0,1 proc., Szabó) wird es schon in wenig Minuten vollkommen zerlegt. Verdünnte Essigsäure bewirkt diese Zersetzung erst bei längerem Kochen allmählich; das im Harn enthaltene phenolschwefelsaure Salz wird durch einstündiges Erwärmen mit verdünnter Essigsäure nicht zersetzt. Auch durch Kochen mit saurem schwefelsauren Kali wird es zersetzt. Dagegen widersteht es der Einwirkung der Fäulniss und der der Alkalilaugen; es kann selbst mit concentrirter Kalilauge ohne Zersetzung gekocht werden.

Das lufttrockene Salz beginnt sich schon unter 100° zu zersetzen; bei 150—160° verwandelt es sich vollständig in das isomere paraphenolsulfonsaure Kali: $HO . C_6H_4 . SO_2 . OK$.

Im Gegensatz zum Kalisalz ist das Natronsalz leicht zersetzlich; es zersetzt sich schon beim Verdampfen seiner wässrigen Lösung auf dem Wasserbad. In trockenem Zustand nimmt es begierig Feuchtigkeit auf und lässt sich nur kurze Zeit unzersetzt aufbewahren. Bei ungefähr 130° geht das trockene Salz in paraphenolsulfonsaures über.

4. Eine heissgesättigte Lösung von Pikrinsäure in 50 proc. Alkohol giebt mit einer Lösung von Phenol in ebenso starkem Alkohol eine krystallinische Verbindung von $C_6H_5 . OH$, $2\, C_6H_2(NO_2)_3 . OH$ (Goedike[2]).

5. Das Phenol giebt eine Reihe von Reactionen, von welchen die meisten für den Nachweis desselben gut verwendbar sind.

a. Salpetersaures Silber wird beim Kochen mit Phenol, auch bei Gegenwart von überschüssigem Ammoniak, nicht verändert; nach Zusatz von Kali- oder Natronlauge giebt jedoch die heisse Flüssigkeit einen schwarzen Niederschlag von metallischem Silber. — Salpetersaures Quecksilberoxyd wird durch Phenol nicht reducirt, ebenso wenig Fehling'sche Flüssigkeit.

b. Phenollösungen werden auf Zusatz neutraler Eisenchloridlösungen intensiv blauviolett gefärbt.

---

1) Baumann, Ber. d. chem. Gesellsch. **9**. 1716; **10**. 686; Ztschr. f. physio Chem. **2**. 335.

2) R. Goedike, Arch. des sc. biol. **2**. 422. 1893.

Die Färbung wird durch viel überschüssiges Reagens, sowie schon durch Spuren von Säuren oder Ammoniak aufgehoben oder verhindert. Eine alkoholische oder mit Hilfe von Alkohol bereitete Phenollösung giebt die Reaction nicht (Hesse), aber mässige Mengen Alkohol bringen die entstandene Blaufärbung nicht zum Verschwinden (Huppert). Salicylsäure giebt dieselbe Reaction; eine mit Eisenchlorid violett gefärbte Salicylsäurelösung zeigt aber nach Krukenberg[1]) einen Absorptionsstreifen zwischen E und F, während eine ebensolche Phenollösung nur bei starker Concentration und bei hellster Beleuchtung einen schwachen Streifen auf D erkennen lässt.

c. Wird Phenolalkali in der Wärme mit Chloroform befeuchtet, so bildet sich sogleich ein rother, in verdünntem Alkohol mit carminrother Farbe löslicher Beschlag; die Reaction wird noch mit Spuren von Phenol erhalten (Guareschi[2]).

Resorcin giebt nach Lustgarten dieselbe Reaction, Brenzkatechin und Hydrochinon dagegen nicht. — Nach Desesquelles färbt Resorcin rosa, Hydrochinon goldgelb, Kreosot violett, Thymol dunkelviolett, α-Naphtol himmelblau, β-Naphtol grünblau, Pyrogallol violett. Nach Lambert[3]) geben mit Jodoform Resorcin, Phloroglucin, Pyrogallol rosa oder roth, Orcin und Salicylsäure rothviolett, Guajacol und Thymol violett, Hydrochinon und die beiden Naphtole blau; das Jodoform lässt sich durch Chloroform oder Bromoform ersetzen. Die Färbungen verschwinden nach Zusatz von Säure, treten aber bei Zusatz von Alkali wieder auf.

d. Wird 1 cc so schwache wässrige Phenollösung, dass sie sich kaum noch mit Eisenchlorid färbt, mit einigen Körnchen Paraoxybenzaldehyd (oder Salicylaldehyd) und dem gleichen Volumen concentrirter Schwefelsäure versetzt, so erwärmt sie sich unter Bildung von Aurin; die gelbe Lösung wird beim Uebersättigen mit Alkali schön rosa. Die Probe ist nicht so empfindlich wie die mit Brom (l.) (Nencki und Sieber[4]).

e. Löst man ein Körnchen Phenol in 1 cc Wasser, fügt 1 Tropfen 0,5 proc. Furfurolwasser hinzu und lässt unter die Mischung 1 cc concentrirte Schwefelsäure fliessen, so färbt sich die Flüssigkeit kirschroth, später blau. Man hat durch Abkühlen dafür zu sorgen, dass die Temperatur der Mischung nicht über 50^0 steigt (v. Udránszky[5]).

f. Mit Diazobenzolsulfonsäure färbt sich eine stark alkalische Phenollösung dunkelroth (Penzoldt und Fischer[6]).

g. Erwärmt man Phenollösung mit etwas gewöhnlicher (untersalpetersäurehaltiger) Salpetersäure, so färbt sich die Flüssigkeit unter Bildung von Pikrinsäure intensiv gelb, darauf beim Uebersättigen mit Natronlauge braungelb. — Kreosot (Kreosol und Guajacol) verhält sich nach Saillet[7]) ebenso.

h. Fügt man nach Allen[8]) zu einigen Tropfen Salzsäure 1—2 Tropfen der zu untersuchenden Flüssigkeit und dann einen Tropfen concentrirter Salpetersäure, so färbt sich die Flüssigkeit alsbald kirsch-

---

1) O. Hesse, Ann. d. Chem. **182**. 161. — Krukenberg, Verhandl. d. physik. med. Gesellsch. zu Würzburg, N. F. **18**. 197.

2) Guareschi, Ber. d. chem. Gesellsch. **5**. 1055. 1872.

3) Lustgarten, Monatshefte f. Chemie **3**. 719. 1882. — E. Desesquelles, Comptes rendus de la Soc. de Biol. 1890. 101; Jahresb. f. Thierch. 1890. 180. — L. M. Lambert, L'Union pharmaceutique **33**. 17; Ztschr. f. analyt. Ch. **32**. 235.

4) Nencki u. Sieber, Journ. f. prakt. Chem. [2] **26**. 25. 1882.

5) L. v. Udránszky, Ztschr. f. physiol. Ch. **12**. 355. 1888.

6) F. Penzoldt u. E. Fischer, Berichte d. chem. Gesellsch. **16**. 657.

7) Saillet, Bull. gén. de thérap. 8. 1892; Jahresb. f. Thierch. 1893. 254.

8) Allen, Chem. Centralbl. 1879. 559.

roth; gelindes Erwärmen unterstützt den Eintritt der Reaction, Alkohol verhindert sie nicht. — Beim Uebersättigen mit Natronlauge färbt sich die rothe Flüssigkeit dunkelbraun.

i. Mischt man Phenollösung mit einigen Tropfen einer alkoholischen Lösung von Salpetrigsäure-Aethyläther und dem gleichen Volumen concentrirter Schwefelsäure, so tritt Rothfärbung ein. Schichtet man die Mischung auf die Schwefelsäure, so bildet sich ein rother Saum. Die Reaction tritt noch bei 1 : 2000000 ein. Der Salpetrigsäure-Aether lässt sich nicht durch salpetrigsaures Kali ersetzen, wohl aber durch dieses und Alkohol, doch tritt, wenn die salpetrige Säure im Ueberschuss ist, leicht gelbliche Färbung ein (Eijkman[1]).

k. Setzt man nach E. W. Davy[2]) in einer Porzellanschale 3—4 Tropfen Molybdänschwefelsäure (eine Lösung von 1 Theil Molybdänsäure in 10 oder mehr Theilen concentrirter Schwefelsäure) zu 1—2 Tropfen Phenollösung, so tritt sogleich eine hellgelbe bis gelblichbraune Färbung ein, die durch eine kastanien- oder rothbraune in eine schön purpurfarbene übergeht; durch sehr gelindes Erwärmen wird die Reaction beschleunigt. — In sehr verdünnten Phenollösungen entsteht erst eine dunkelolivengrüne, schnell blau werdende, aber keine purpurrothe Färbung.

l. Versetzt man Phenollösung mit Bromwasser bis zu einer dauernden leichten Gelbfärbung, so tritt nach Landolt[3]) ein gelblichweisser flockiger krystallinischer Niederschlag von Tribromphenol $C_6H_2Br_3.OH$ auf. Bei einer Verdünnung von 1 : 40000 entsteht sofort noch Trübung, bei einer Verdünnung von 1 : 50000 nach einigen Stunden ein krystallinischer Niederschlag.

Nach Benedikt besteht der Niederschlag bei Verwendung eines starken Ueberschusses von Bromwasser aus Tribromphenol-Brom $C_6H_2Br_3.OBr$; derselbe krystallisirt aus Bromwasser in citronengelben glänzenden Plättchen und zersetzt sich beim Kochen mit Alkohol zu Tribromphenol. — Durch Natriumamalgam lässt sich das Phenol aus dem Tribromphenol regeneriren. — Das Tribromphenol löst sich nach Rumpf[4]) in (10proc.) Sodalösung, das Tribromphenol-Brom wie es scheint nicht. Neben diesen Verbindungen entstehen ausserdem braune Produkte.

Die Probe lässt sich nach Jacobson[5]) noch mit 1 Tropfen Phenollösung (mit 1 g Phenol in 40000) ausführen, wenn man die Flüssigkeit auf dem Objektträger Bromdämpfen aussetzt. Das Mikroskop weist die Krystalle nach.

Ausser dem Phenol geben noch manche andere Substanzen, die entweder im Harn vorkommen können oder zu Harnbestandtheilen in Beziehung stehen, mit Bromwasser, wenn auch nicht immer krystallinische, Niederschläge, so das Kresol und die Paraoxybenzoësäure (beide Tribromphenol liefernd), die Salicylsäure (Dibromsalicylsäure), das Indol und Indican, die Kynurensäure, die Oxysäuren (§ 24, I.) des Harns. — Im Harndestillat wird der Niederschlag nicht immer krystallinisch. Im Destillat von Hundeharn entsteht nach I. Munk mit Bromwasser nur selten ein Niederschlag. Häufiger aber, wenn man den Harn vor der Destillation alkalisch macht und eindampft.

---

1) J. F. Eijkman, Ztschr. f. anal. Ch. **22**. 576. 1883.
2) E. W. Davy, Ztschr. f. anal. Ch. **18**. 292.
3) H. Landolt, Ber. d. chem. Gesellsch. **4**. 770.
4) Benedikt, Ber. d. chem. Gesellsch. **12**. 1005; Ann. d. Ch. **199**. 127. — Rumpf, Ztschr. f. physiol. Ch. **16**. 239.
5) Jacobson, Ztschr. f. analyt. Ch. **25**. 607. 1886.

m. Das Phenol giebt, wie nach O. Nasse alle Monohydroxyl-Benzolderivate, die Millon'sche Reaction. Dieselbe kann in verschiedenen Modificationen angestellt werden.

α. Man setzt vom Millon'schen Reagens 5—10 Tropfen zu einer Phenollösung, kocht und tropft zu der heissen Flüssigkeit so viel Salpetersäure, bis der beim Kochen entstandene Niederschlag wieder verschwunden ist; die Flüssigkeit nimmt dabei eine schön rothe Färbung an. Die Reaction misslingt (wie auch in *α*) niemals, nur muss man einen grossen Ueberschuss von Salpetersäure vermeiden. Die Färbung ist sehr intensiv und hält sich mehrere Tage (Almén[1]).

Zur Bereitung des Millon'schen Reagens löst man nach Millon[2] Quecksilber in dem gleichen Gewicht 63proc. Salpetersäure ($4\ HNO_3 + 3\ H_2O$) erst in der Kälte, dann unter gelindem Erwärmen, verdünnt 1 Vol. der Lösung mit 2 Vol. Wasser und lässt den entstandenen Niederschlag sich absetzen. Die klare Lösung ist das Reagens.

β. Kocht man eine verdünnte Phenollösung mit einem Ueberschuss von salpetersaurem Quecksilberoxyd, so bleibt die Flüssigkeit entweder unverändert, oder es entsteht bei genügender Concentration der Lösung ein weisser sandiger Niederschlag; fügt man darauf eine Lösung von salpetrigsaurem Kali hinzu, so färben sich Flüssigkeit und Niederschlag schön dunkelroth. Dieselbe Reaction tritt ein, wenn man der Flüssigkeit schon vor dem Kochen das salpetrigsaure Kali zusetzt. Nach Armsby[3]) erfolgt die Reaction auch in der Kälte nach einiger Zeit.

γ. Erhitzt man eine Phenollösung mit einer Lösung von salpetersaurem Quecksilberoxydul, die eine Spur salpetriger Säure enthält, zum Kochen, so färbt sich die Flüssigkeit intensiv roth, bei concentrirteren Lösungen unter Abscheidung von metallischem Quecksilber. Die Reaction ist noch bei einer Verdünnung von 1 : 60 000 sehr deutlich (Plugge[4]).

n. Eine ammoniakalische Phenollösung färbt sich auf Zusatz eines unterchlorigsauren Salzes wie das Anilin schön blau (Berthelot[5]).

Die Reaction gelingt nicht leicht. Man darf nur so viel unterchlorigsaures Salz (Lösung von 1 Theil Chlorkalk in 20 Theilen Wasser) hinzufügen, dass nicht alles Ammoniak zersetzt wird. Die Flüssigkeit ist anfangs grün, wird aber dann schnell blau; gelindes Erwärmen beschleunigt die Reaction. Beim Ansäuern wird die Flüssigkeit roth, bei darauf folgendem Uebersättigen mit Ammoniak wieder blau. — Brom giebt nach Cotton[6]) diese Reaction noch besser, als unterchlorigsaures Salz.

o. Versetzt man nach E. Jacquemin[7]) eine Carbollösung mit (der gleichen Menge) Anilin und darauf mit unterchlorigsaurem Natron, so entsteht erythrocarbolsaures Natron, welches eine blaue Farbe besitzt. Säuren färben die Flüssigkeit roth, Alkalien wieder blau.

Behandelt man Anilin mit Chlorwasser oder unterchlorigsaurem Salz und versetzt man das Filtrat mit überschüssigem Ammoniak, so erhält man nach Cotton eine braune Flüssigkeit, welche auf Zusatz von Phenol blau wird. — Jacobson[8]) führt die Probe in folgender Weise aus. Es werden 3 Tropfen farbloses Anilin in 50 cc Wasser gelöst und davon 5—10 Tropfen in einem halben Reagensglas Wasser

1) Aug. Almén, Ztschr. f. anal. Chem. **17**. 107. 1878.
2) Millon, Comptes rendus **28**. 40. 1889.
3) H. P. Armsby, Landwirthsch. Versuchsstationen **25**. 471.
4) P. C. Plugge, Ztschr. f. analyt. Chem. **11**. 173. 1872.
5) Berthelot, Chem. Centralbl. 1859. 463.
6) S. Cotton, Bull. de la Soc. chim. [2] **21**. 8.
7) E. Jacquemin, Comptes rendus **76**. 1605; Ztschr. f. anal. Ch. **15**. 367.
8) Jacobson, a. a. O.

mit einer Natriumhypochloritlösung vermischt, welche man durch Verreiben gleicher Theile Chlorkalk und kohlensaures Natron mit etwas Wasser und Filtriren erhält. Von dieser Mischung setzt man so lang zu der ammoniakalischen Probe hinzu, bis sie deutlich violett oder braungelb geworden ist. Bei Gegenwart von Phenol geht die Färbung in grün oder blau über.

Die Reaction tritt nach Denigès[1]) noch ein, wenn man eine Lösung von 40 g Phenol und 5 g Anilin in 1 Ltr. mit einer Spur Hypochlorit versetzt; sie ist nach Jacquemin viel empfindlicher als b, tritt aber nach Almén nicht immer ein.

Mehrere dieser Reactionen sind nach ihrer Schärfe unter einander verglichen worden. Nach Almén ist die empfindlichste die mit Millon's Reagens (m) in Modification α, sie zeigt das Phenol noch in zweimillionenfacher Verdünnung an; minder empfindlich ist die Modification β, sie lässt das Phenol noch bei einer Verdünnung von 1 : 200000 erkennen. Auf diese folgt die Reaction mit Bromwasser (l, 1 : 60000), die mit unterchlorigsaurem Natron (n und o, 1 : 50000), die Reaction von Plugge (m γ, 1 : 15000) und die Eisenreaction (b, 1 : 3000).

Eine ähnliche Vergleichung stellte E. Pollucci[2]) an. Er erhielt die Landolt'sche Reaction (l) noch bei einer Verdünnung von 1 : 15000, die Gelbfärbung mit Salpetersäure (g) noch bei 1 : 6000, die mit Chlorkalk und Ammoniak (n) bei 1 : 3000, die mit Eisenchlorid (b) bei 1 : 2000.

p. Phenol gibt nach Messinger und Vortmann[3]) beim Erwärmen mit Jod und Natronlauge auf 50—60° einen dunkelrothen amorphen Niederschlag von Trijodphenol.

Die Reaction geht auch in der Kälte vor sich, vollzieht sich dann aber nur sehr langsam. Zur vollständigen Ueberführung des Phenols in Trijodphenol ist ein ziemlich grosser Ueberschuss an Jod erforderlich (Kossler und Penny[4]). Durch Thiosulphat wird das Trijodphenol nicht zerlegt.

6. Mit salpetriger Säure entwickelt das Phenol nach Kreusler eine nicht unerhebliche Menge Stickstoff. — Eine alkalische Permanganatlösung wird nach Baeyer[5]) durch Phenol augenblicklich reducirt.

C. *Nachweis.* Direct im Harn lässt sich das Phenol mit keiner der Phenolreactionen nachweisen, trotz ihrer grossen Empfindlichkeit; es ist vielmehr das Phenol im Harn erst aus der Phenolschwefelsäure abzuscheiden und dann abzudestilliren.

Zu diesem Zwecke wird Harn (1 *l*) mit soviel Schwefelsäure versetzt, dass er 5 % H_2SO_4 enthält und so lang destillirt, bis sich das Destillat mit Bromwasser nicht mehr trübt, oder sich bei der Millon'schen Reaction nicht mehr rosenroth färbt, wobei allerdings nach Kossler und Penny nicht alles Phenol gewonnen wird. Mit dem Destillat lassen sich ohne Weiteres Reactionen anstellen. Um das gewonnene Phenol (Kresol) in concentrirtere Lösung zu bringen und zugleich vorhandene Salicylsäure, welche die Reactionen beeinträchtigen würde, zu entfernen, sättigt man das Destillat in der Kälte mit kohlensaurem Natron und schüttelt es wiederholt mit Aether aus. Die abgehobenen Aetherportionen vereinigt man

1) Denigès, Bull. de la Soc. chim. [3] 5. 66.
2) E. Polluci, Ber. d. chem. Gesellsch. 9. 360. 1874.
3) J. Messinger u. G. Vortmann, Ber. d. chem. Gesellsch. 22. 2313. 1889.
4) A. Kossler u. E. Penny, Ztschr. f. physiol. Ch. 17. 122. 1892.
5) U. Kreusler, Landwirthschaftl. Versuchsstationen 31. 309. 1885. — Baeyer, Ann. d. Ch. 246. 149.

und lässt sie bei gewöhnlicher Temperatur verdunsten. Baumann[1]) reinigt das Phenol in der Weise, dass er das Destillat mit Aether ausschüttelt, den Aether abdestillirt, den Rückstand mit überschüssiger Kalilauge kocht, um flüchtige, stickstoffhaltige Substanzen zu entfernen, die Flüssigkeit ansäuert, wieder mit Aether ausschüttelt und den Aether verdunstet.

Nach Vergiftung mit sehr grossen Gaben Phenol ist ein Theil desselben auch als solches und als Phenolalkali im Harn enthalten und kann schon durch Destilliren des Harns mit Essigsäure gewonnen werden (Reale). — Um die Ausbeute an Phenol zu erhöhen, empfiehlt es sich, nach Munk, den Harn vor der Destillation bei alkalischer Reaction auf 1/5 einzudampfen. — Die unterjodige Säure (B. 5. p.) ist kein geeignetes Reagens, weil es mit Aceton, welches im Destillat, namentlich reichlich bei Gegenwart von Acetessigsäure, enthalten sein kann, einen (gelben) Niederschlag von Jodoform giebt; ein ähnlicher Niederschlag entsteht nach Salkowski und Taniguti[2]) auch mit einer aldehydartigen Substanz, welche im Destillat auftritt, wenn man den Harn mit Schwefelsäure zu weit einkocht.

Einige der Phenolreactionen fallen mit denen des Kresols zusammen, so das Verhalten gegen Brom und gegen Salpetersäure; wie weit die Aehnlichkeit reicht, ist nicht für alle Reactionen bekannt. Unzweifelhaft ist es aber, dass das Kresol vielfach mit dem Phenol verwechselt worden ist. Eine Trennung des Phenols vom Kresol ist von Brieger[3]) durch fractionirte Destillation vieler hundert Liter Menschenharn und von Baumann durch Ueberführen der Phenole in ihre Sulfonsäuren bewerkstelligt worden (vergl. Kresol, Nachweis).

Die Phenolschwefelsäure ist von Baumann als Kalisalz aus dem Pferdeharn dargestellt worden[4]); doch lässt sie sich hier nur schwer frei von Kresolschwefelsäure gewinnen; rein erhält man sie dagegen aus dem Harn von Menschen oder Hunden, welche mit Phenol behandelt wurden.

Man verdunstet nach Baumann[5]) 8—10 *l* Harn von Hunden, denen täglich mehrere Gramm Phenol beigebracht wurden, zum Syrup, extrahirt den Rückstand mit 96proc. Alkohol, fällt die abfiltrirte Lösung in der Kälte mit einer Lösung von Oxalsäure in Alkohol vollständig aus, filtrirt sogleich und setzt Kalihydrat bis zur schwach alkalischen Reaction zu. Es wird alsdann wieder filtrirt, die Flüssigkeit zum Syrup verdunstet und dieser in der Kälte stehen gelassen oder der Einwirkung einer Kältemischung ausgesetzt, wobei er zu einem Brei von Krystallplättchen erstarrt. Diese werden auf dem Vacuumfilter von der Mutterlauge befreit und aus siedendem Alkohol umkrystallisirt.

II. Kresol.



$CH_3 . C_6H_4 . OH.$

A. *Vorkommen.* Das Kresol macht den Hauptbestandtheil der im Menschen- und Pflanzenfresserharn enthaltenen Phenole aus. Von den drei möglichen (isomeren) Kresolen wiegt im Kresol des Harns das

1) Kossler u. Penny, a. a. O. 135. — Baumann, Ztschr. f. physiol. Ch. 6. 186. 1882.

2) E. Reale, Gaz. delle cliniche 1890; Centralbl. f. klin. Med. 12. 487; Jahresb. f. Thierch. 1891. 401. — I. Munk, Du Bois' Archiv 1880. Suppl. 27. — E. Salkowski u. Ken Taniguti, Ztschr. f. physiol. Ch. 14. 476. 1890. — Salkowski, Pflüger's Archiv 56. 339. 1894.

3) Brieger, Ztschr. für physiol. Ch. 4. 206.

4) Baumann, Pflüger's Acrhiv 13. 289; Ztschr. f. physiol. Ch. 2. 335.

5) Baumann, Pflüger's Archiv 13. 294; Ztschr. f. physiol. Ch. 2. 336.

Parakresol vor, neben welchem im Menschenharn noch Orthokresol, im Pferdeharn ausserdem vielleicht noch Metakresol nachgewiesen wurde. Das Kresol ist zuerst von Staedeler im Kuhharn aufgefunden und Taurylsäure genannt worden.

B. *Eigenschaften.* I. 1. Das Parakresol (1, 4) bildet eine weisse krystallinische Masse von phenolartigem, an faulen Harn erinnernden Geruch, schmilzt bei 35—36°, siedet bei 197—199°, löst sich schwer in Wasser, leicht in Alkohol und in Aether. Wie das Phenol und die beiden anderen Kresole verflüchtigt es sich leicht mit Wasserdämpfen.

2. Es verbindet sich, wie das Phenol, mit Basen; in Barytwasser ist es schwerer löslich als das Phenol. Seine wässrige Lösung färbt sich mit Eisenchlorid schön blau.

3. Beim Erwärmen mit concentrirter Schwefelsäure verwandelt es sich u. A. in Kresolmetasulfonsäure $\left.\begin{matrix} HO \\ CH_3 \end{matrix}\right\} C_6H_3 . SO_2 . OH$, deren Eisenoxydsalz eine violette Farbe besitzt; sie ist ferner durch ein selbst in kochendem Wasser schwer lösliches, in feinen Nadeln krystallisirendes basisches Barytsalz, $C_7H_6SO_4Ba + 2 H_2O$, ausgezeichnet.

4. Das parakresolschwefelsaure Kali, welches sich wie das der homologen Phenolschwefelsäure erhalten lässt, ist äusserlich kaum von diesem zu unterscheiden und verhält sich gegen Wasser, Säuren und Alkalien wie dieses, nur löst es sich schwerer in Wasser und in Alkohol, zersetzt sich schneller beim Aufbewahren und widersteht der Fäulniss nicht so energisch; mit Eisenchlorid färbt es sich nicht. Bei 140—150° verwandelt es sich in Kresolsulfonsäure (Baumann). In alkalischer Lösung wird die Parakresolschwefelsäure nach Heymann und Königs[1]) durch Permanganat zu Paraoxybenzoësäure oxydirt.

5. Eine heiss gesättigte Lösung von Pikrinsäure in 50proc. Alkohol giebt mit einer alkoholischen Parakresollösung nach Goedike[2]) keinen Niederschlag.

6. Eine wässrige Parakresollösung giebt mit überschüssigem Bromwasser im Gegensatz zum Phenol nur langsam eine Trübung, welche nach einiger Zeit unter Abscheidung von Tribromkresol-Brom, $C_7H_4Br_3 . OBr$, krystallinisch wird und sich nach Baumann u. Brieger unter Bromwasser allmählich in Kohlensäure und Tribromphenol zersetzen soll. — Rumpf erhielt bei lang andauernder Einwirkung von Brom auf Parakresol neben Dibrom-Parakresol ein höher gebromtes Kresol, welches nach einiger Zeit auch in Dibrom-Kresol, aber nicht in Tribromphenol übergeht. Nach Kossler u. Penny[3]) verbraucht das Parakresol bei erschöpfender Einwirkung auf das Molekül 4 At. Br und beim Zurücktitriren des überschüssigen Broms mit Thiosulphat und Jodkaliumkleister findet ein Nachbläuen statt, wie beim Behandeln von Tribromphenolbrom mit Thiosulphat; die Reaction zwischen Parakresol und Brom erreicht in der Kälte erst nach langer Zeit (90 Std.) ihr Ende, schneller in der Wärme.

7. Mit Salpetersäure färbt sich das Parakresol gelb.

8. Versetzt man eine wässrige Parakresollösung mit Nitroprussidnatrium und Kalilauge, so wird die Flüssigkeit rothgelb, beim Uebersättigen mit Essigsäure hellrosaroth (v. Jaksch[4]).

---

[1]) Baumann, Ztschr. f. physiol. Chem. 2. 340. — B. Heymann und W. Königs, Ber. d. chem. Gesellsch. 19. 704. 1886.

[2]) R. Goedike, Arch. des sc. biol. 2. 422. 1893.

[3]) Baumann u. Brieger, Ber. d. chem. Gesellsch. 12. 804. — Rumpf, Ztschr. f. physiol. Ch. 16. 223 und 237. 1891. — A. Kossler und E. Penny, daselbst 17. 130. 1892.

[4]) v. Jaksch, Ztschr. f. klin. Med. 8. 130. 1884.

9. Bei der Furfurolreaction (S. 151) färbt sich Kresol hellroth, später violett, schliesslich blau (v. Udránszky[1]).

10 Beim Schmelzen mit Kalihydrat wird es zu Paraoxybenzoësäure, $HO.C_6H_4.COOH$, oxydirt.

II. Das Orthokresol (1, 2) bildet bei 31 – 31,5⁰ schmelzende Krystalle und siedet bei 185—186⁰ (Kekulé). Es ist dem Parakresol sehr ähnlich, bildet wie dieses Sulfon- und Aetherschwefelsäuren, und giebt beim Schmelzen mit Kalihydrat (die der Paraoxybenzoësäure isomere) Salicylsäure. Das orthokresolschwefelsaure Kali bildet gleichfalls glänzende Plättchen und Tafeln, ist in Wasser und in Alkohol etwas leichter löslich als die Paraverbindung und wird in alkalischer Lösung nach Heymann und Königs durch Permanganat zu Salicylsäure oxydirt. Eine Lösung von Orthokresol in 50 proc. Alkohol giebt nach Goedike mit einer heiss gesättigten Lösung von Pikrinsäure in ebenso starkem Alkohol einen krystallinischen Niederschlag einer Verbindung beider Körper.

III. Das Metakresol (1, 3) bildet eine farblose, bei 201⁰ siedende Flüssigkeit von phenolartigem Geruch, verhält sich wie die beiden anderen Kresole, liefert aber beim Schmelzen mit Kalihydrat Oxybenzoësäure. Seine wässrige Lösung färbt sich mit Eisenchlorid blauviolett bis blau. Durch Pikrinsäure wird es nach Goedike aus seiner alkoholischen Lösung nicht niedergeschlagen.

C. *Nachweis.* Bei der Untersuchung kleiner Mengen Harn ist ein Nachweis des Kresols neben dem Phenol nicht durchführbar; die beim Nachweis des »Phenols« aus dem Harn isolirte Substanz besteht ihrer Hauptmenge nach aus Kresol. Eine sichere Erkennung des Kresols neben dem Phenol lässt sich erreichen durch Ueberführen der Phenole in ihre Sulfonsäuren, von welchen das Barytsalz der Parasäure in Barytwasser unlöslich ist (Baumann), oder so, dass man die flüchtigen Phenole des Harns durch Schmelzen mit Kalihydrat in ihre Oxybenzoësäuren überführt, wozu allerdings grössere Mengen der Phenole erforderlich sind. Nach beiden Methoden lassen sich auch die Kresole neben einander nachweisen.

Zur Darstellung der Sulfonsäure werden nach Baumann[2]) die Phenole mit dem gleichen Gewichte concentrirter Schwefelsäure eine Stunde lang auf dem Wasserbade erwärmt, die Mischung nach dem Verdünnen mit Baryt neutralisirt, das Filtrat bis nahe zur Krystallisation verdampft und mit concentrirtem Barytwasser versetzt. Der Niederschlag besteht aus basischem p-kresolsulfonsauren Baryt, in Lösung befindet sich das phenolsulfonsaure und das o-kresolsulfonsaure Salz neben einem Rest des p-kresolsulfonsauren Salzes, das durch Wiederholen des Verfahrens vollends abgeschieden wird.

Will man die Kresole als Oxybenzoësäuren nachweisen, so wird nach dem Schmelzen der Phenole mit Kalihydrat die Masse in Wasser gelöst, mit Schwefelsäure angesäuert, filtrirt, das Filtrat in der Kälte mit kohlensaurem Natron alkalisch gemacht und das Phenol sowie das der Reaction entgangene Kresol durch Schütteln mit Aether entfernt. Die bleibende wässrige Lösung dampft man ein und destillirt sie mit überschüssiger Salzsäure, wobei die aus dem Orthokresol entstandene Salicylsäure übergeht. Dem Destillationsrückstand entzieht man die in ihm noch enthaltenen Säuren mit Aether, verdunstet die ätherische Lösung, und wäscht aus ihr einen Rest Salicylsäure mit Chloroform aus, wobei Paraoxybenzoësäure und, wenn sie vorhanden, auch Oxybenzoësäure zurückbleibt (Preusse[3]).

---

[1]) L. v. Udránszky, Ztschr. f. physiol. Ch. **12**. 355. 1888.
[2]) Baumann, Ztschr. f. physiol. Ch. **6**. 185. 1882.
[3]) Preusse, Ztschr. f. physiol. Ch. **2**. 355.

Die Kresolschwefelsäure lässt sich am Besten aus Pferdeharn gewinnen, und zwar nach demselben Verfahren, wie die Phenolschwefelsäure. Ein kürzeres Verfahren, bei welchem ein zwar nicht ganz reines, aber doch vorwiegend aus parakresolschwefelsaurem Kali bestehendes Salz erzielt wird, hat Brieger[1]) angegeben.

Frischer Harn wird nacheinander mit Bleizucker und Bleiessig ausgefällt, das Filtrat mit Schwefelwasserstoff behandelt, die Flüssigkeit im Wasserbad zum Syrup eingedampft und einige Zeit im Vacuum stehen gelassen. Das Salz krystallisirt dabei in Plättchen aus, die wiederholt aus viel heissem absoluten Alkohol umkrystallisirt werden müssen. Für die quantitative Bestimmung ist das Verfahren nicht geeignet, da im Bleiessigniederschlag ein Theil der Säure verloren geht.

III. Brenzkatechin.



$C_6H_4(OH)_2$.

Syn. Orthodioxybenzol 1,2.

A. *Vorkommen.* Das Brenzkatechin findet sich regelmässig im Harn des Menschen, in etwas grösserer Menge im Pferdeharn als Brenzkatechin-Schwefelsäure, im Carnivoren- und Herbivorenharn fehlt es bei animalischer Nahrung ganz; es stammt aus der im Pflanzenreich weit verbreiteten Protokatechusäure (Brenzkatechincarbonsäure) $(HO_2).C_6H_3.COOH$ (Preusse). Reichlicher kommt es nach dem Gebrauch von Phenol und phenolschwefelsaurem Salz (Baumann und Preusse, Brieger) oder Benzol (Nencki und Giacosa, Schmiedeberg) als Brenzkatechin-Schwefelsäure im Harn vor. Das eine Zeit lang für Brenzkatechin gehaltene und ihm sehr ähnliche Alkapton Boedekers[2]) ist kein Brenzkatechin, sondern eine Alkaptonsäure. (§ 24. V.)

Brenzkatechin giebt Moscatelli[3]) an im Harn eines Kaninchens aufgefunden zu haben, welchem Pasteur'scher Lyssaimpfstoff injicirt worden war.

B. *Eigenschaften.* 1. Das Brenzkatechin krystallisirt aus Wasser oder Aether in tetragonalen Prismen, aus Benzol in breiten Tafeln, schmilzt bei 102—104⁰, siedet bei 240—245⁰ und sublimirt in glänzenden rechtwinkligen Plättchen. Es löst sich leicht in Wasser, in Alkohol und in Aether, ferner in heissem Toluol und zum Unterschied vom Hydrochinon in kaltem Benzol. Mit Wasserdämpfen ist es etwas flüchtig (Fittig).

2. Seine Lösungen färben sich bei Gegenwart von Alkalihydraten oder kohlensauren Alkalien an der Luft unter Absorption von Sauerstoff grün, grünbraun, braun und endlich schwarz. Seinen mit kohlensaurem Alkali versetzten Lösungen lässt es sich mit Aether entziehen. Mit essigsaurem Blei giebt es im Gegensatz zum Hydrochinon einen weissen, in Essigsäure löslichen Niederschlag.

---

1) Brieger, Ztschr. f. physiol. Ch. 8. 311.

2) Preusse, Ztschr. f. physiol. Ch. 2. 329. — Baumann und Preusse, Ztschr. f. physiol. Ch. 3. 157. — Brieger, Du Bois' Archiv 1879. Suppl. 67. — Nencki u. Giacosa, Ztschr. f. physiol. Ch. 4. 336. 1880. — O. Schmiedeberg, Archiv f. exper. Pathol. 14. 306. 1881. — Boedeker, Ztschr. f. rat. Med. [3] 7, 130. 1859; Ann. d. Ch. u. Pharm. 117. 98. 1861.

3) R. Moscatelli, Virchow's Archiv 128. 181. 1892.

Aus wässriger Lösung wird es nach Böttinger[1]) durch eine ammoniakalische Chlorcalciumlösung als saures Salz $(HO . C_6H_4 . O)_2Ca$ gefällt und unterscheidet sich dadurch gleichfalls vom Hydrochinon (und Resorcin). — Bei Zusatz einer heissgesättigten Lösung von Pikrinsäure in 50 proc. Alkohol zu einer Lösung von Brenzkatechin in 50 proc. Lösung fällt nach Goedike[2]) eine krystallinische Verbindung beider Körper nach gleichen Molekülen.

3. Mit pyroschwefelsaurem Kali setzt sich das Brenzkatechin in alkalischer Lösung zu brenzkatechin-diäther- und monoätherschwefelsaurem Kali um. Das Salz der Diätherschwefelsäure, $C_6H_4(SO_4K)_2$, bildet ein in absolutem Alkohol unlösliches weisses Krystallpulver, dessen wässrige Lösung mit Eisenchlorid keine Farbenreaction giebt. Das Kalisalz der Monoätherschwefelsäure, $HO . C_6H_4 . SO_4K$, krystallisirt nach dem Verdunsten seiner alkoholischen Lösung in farblosen glänzenden Plättchen, die sich leicht in Wasser lösen und deren wässrige Lösung durch Eisenchlorid violett wird (Baumann). Beide Aetherschwefelsäuren zersetzen sich bei der Einwirkung von Mineralsäuren und nach Preusse[3]) gleichfalls leicht beim Faulen des Harns.

4. Eisenchlorid färbt Brenzkatechinlösung sofort dunkelgrün, weiterhin wird die Flüssigkeit schwarz; die Reaction tritt auch noch bei Verdünnungen ein, bei welchen Phenol mit Eisenchlorid nicht mehr gefärbt wird. Macht man die grüne Lösung (bei Gegenwart von Weinsäure) mit Ammoniak alkalisch, so färbt sie sich bei wenig Ammoniak violett, bei viel Ammoniak kirschroth; beim Uebersättigen mit Essigsäure wird sie wieder grün, mit Ammoniak wieder violett oder kirschroth. Die Rothfärbung ist viel intensiver als die Grünfärbung (Hlasiwetz und Barth; Ebstein und Müller[4]).

5. Eine Brenzkatechinlösung reducirt salpetersaures Silber, Goldchlorid. Platinchlorid, übermangansaures Kali schon in der Kälte, färbt sich mit saurem chromsauren Kali schwarz und reducirt alkalische Kupferoxydlösung in der Wärme, dagegen nicht Wismuthoxyd.

6. Bei der Furfurolprobe (S. 151) färbt sich Brenzkatechin tief kirschroth, später violett (v. Udránszky[5]).

7. Die Phenolprobe von Guareschi (I. B. 5. c; S. 151) giebt das Brenzkatechin nicht. Mit Diazobenzolsulfonsäure in stark alkalischer Lösung färbt es sich dunkelroth (Penzoldt und Fischer).

C. *Nachweis.* Brenzkatechin enthaltende Harne färben sich bei alkalischer Reaction an der Luft schnell dunkel. Zur Darstellung des Brenzkatechins empfiehlt Baumann[6]) nach Brieger, sowie nach Nencki und Giacosa folgendes Verfahren.

Der Harn wird mit Salzsäure stark angesäuert, $^1/_2$ Stunde auf dem Wasserbad erwärmt und nach dem Erkalten mit Aether extrahirt; die Aetherauszüge werden zur Entfernung der Salzsäure und organischen Säuren so oft mit erneuerter Sodalösung geschüttelt, als sich diese noch färbt, der Aether verdunstet und der Rückstand mit kleinen Mengen gesättigter Kochsalz- oder Glaubersalzlösung extrahirt, wobei Phenol und Kresol neben anderen Stoffen grösstentheils ungelöst zurückbleiben. Die Salzlösungen, in welchen Brenzkatechin und Hydrochinon enthalten sein können, werden nach dem Verdünnen mit Wasser so lang destillirt, als flüchtige Phenole übergehen; nach dem Erkalten wird der

---

1) H. Böttinger, Chemiker Ztg. **19**. 23; Chem. Centralbl. 1895. **4**. 332.
2) R. Goedike, Archives des sc. biol. **2**. 422. 1893.
3) Baumann, Ztschr. f. physiol. Ch. **2**. 343. — Preusse, Ztschr. . physiol. Ch. **2**. 384.
4) Ebstein u. Müller, Virchow's Archiv **65**. 394. 1875.
5) L. v. Udránszky, Ztschr. f. physiol. Ch. **12**. 355. 1888.
6) E. Baumann, Ztschr. f. physiol. Ch. **8**. 188.

Destillationsrückstand wieder mit Aether ausgezogen und der Aether verdunstet. Der zurückbleibende Syrup, welcher bei Gegenwart von nicht allzu kleinen Mengen von Hydrochinon krystallinisch erstarrt, wird in Wasser gelöst und unter Vermeidung eines Ueberschusses mit Bleizucker ausgefällt; der Niederschlag enthält das Brenzkatechin, während das Hydrochinon in Lösung geblieben ist. Der Niederschlag wird in Wasser vertheilt, mit Schwefelsäure zersetzt und mit Aether ausgeschüttelt. Beim freiwilligen Verdunsten krystallisirt das Brenzkatechin, wenn es in nicht zu kleinen Mengen vorhanden ist, in kaum gefärbten Prismen. Durch Umkrystallisiren aus heissem Benzol lässt es sich reinigen.

Schmiedeberg[1]) destillirt den Harn mit Salzsäure, bis keine merklichen Mengen von flüchtigen Phenolen mehr übergehen, extrahirt den Retortenrückstand nach einander mit Aether und Essigäther, verdunstet, erwärmt die rückständige Masse nach dem Lösen in Wasser mit Baryumcarbonat und schüttelt das Filtrat abermals mit Aether aus. Beim Verdunsten krystallisirt das Brenzkatechin (mit dem Hydrochinon) aus.

Eine Trennung beider Dioxybenzole kann man, ausser durch das oben angegebene Verfahren, nach Baumann auch durch Ausziehen der trockenen Substanz mit kaltem Benzol erzielen; das Brenzkatechin geht in Lösung und das Hydrochinon bleibt zurück.

Zur Erkennung des Brenzkatechins ist am Besten das Verhalten desselben gegen Eisenchlorid geeignet (B. 4.) Man darf nur wenig einer verdünnten Eisenchloridlösung hinzusetzen. Ammoniak würde Eisenoxyd niederschlagen; um dies zu verhüten, fügt man der Probe vorher etwas Seignettesalz oder Weinsäure hinzu.

IV. Hydrochinon.



$C_6H_4(OH)_2$.

Syn. Paradioxybenzol 1,4.

A. *Vorkommen.* Das Hydrochinon ist bisher nur nach Gebrauch von Phenol und Benzol (Baumann und Preusse, Nencki, Brieger, Baumann[2]), sowie nach der Verabreichung von Hydrochinon selbst mit Bestimmtheit im Harn nachgewiesen worden; es ist in ihm nur als Aetherschwefelsäure enthalten.

B. *Eigenschaften.* 1. Das Hydrochinon bildet rhombische Krystalle (Nadeln oder Tafeln), schmilzt bei 169^0 (Hlasiwetz), sublimirt bei vorsichtigem Erhitzen unverändert, giebt aber nach Baumann und Preusse, sowie nach Wolkow und Baumann[3]) bei schnellem Erhitzen sehr kleiner Mengen im offenen weiten Reagensglas einen violetten Dampf, der sich zu einem indigoblauen Sublimat verdichtet, dessen Farbe beim Hinzubringen von Lösungsmitteln wieder verschwindet. Es löst sich leicht in heissem Wasser, in Alkohol und in Aether; auch löst es sich in heissem Toluol. In kaltem Benzol ist es sehr schwer löslich und unterscheidet sich dadurch vom Brenzkatechin.

2. Gegen Alkalien verhält es sich wie das Brenzkatechin. Durch essigsaures Blei wird es im Gegensatz zum Brenzkatechin nicht gefällt, ebensowenig nach Böttinger durch ammoniakalische Chlorcalciumlösung. Mit Brom giebt es keinen Niederschlag (Landolt[4]).

---

1) O. Schmiedeberg, Archiv f. exper. Pathol. **14**. 305.

2) Baumann. Ztschr. f. physiol. Ch. **8**. 190.

3) Baumann u. Preusse, Ztschr. f. physiol. Ch. **3**. 157. — Wolkow u. Baumann, daselbst. **15**. 251 1891.

4) H. Böttinger, Chemiker-Ztg. **19**. 23.; Chem Centralbl. 1895. **1**. 332. — H. Landolt, Berichte d. chem. Gesellsch. **4**. 773.

3. Es reducirt, wie das Brenzkatechin, leicht Metalloxyde; durch oxydirende Substanzen wird es in Chinon übergeführt.

4. Mit Millon'schem Reagens giebt nach Wolkow und Baumann[1]) das Hydrochinon in der Kälte einen amorphen gelben Niederschlag, der in der Wärme ziegelroth wird.

5. Von den Aetherschwefelsäuren hat Baumann die Mono-, Kühling[2]) die Diätherschwefelsäure dargestellt. Das Kalisalz der Monosäure krystallisirt in farblosen rhombischen Tafeln.

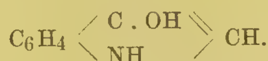
C. *Nachweis.* Hydrochinonhaltige Harne dunkeln bei alkalischer Reaction schnell an der Luft. Das Hydrochinon wird aus denselben ebenso dargestellt wie das Brenzkatechin.

Beim Ausfällen der Dioxybenzole mit essigsaurem Blei bleibt das Hydrochinon in Lösung. Zur Gewinnung des Hydrochinons aus dieser Lösung verfährt man in folgender Weise. Das Filtrat vom Bleiniederschlag wird mit Schwefelsäure zersetzt, mit kohlensaurem Baryt erwärmt, das Filtrat mit Aether ausgezogen und der nach dem Verdunsten des Aethers hinterbleibende, bald krystallinisch erstarrende gelbe bis braune Rückstand aus siedendem Benzol oder Toluol umkrystallisirt.

Erkannt wird das Hydrochinon an der Entwickelung violetter Dämpfe und der Bildung eines blauen Sublimats bei schnellem Erhitzen, ferner an der Entwickelung des Geruchs nach Chinon beim Kochen mit Eisenchlorid.

V. Indoxyl.


$C_8H_7NO.$


$C_6H_4 \langle {C.OH \atop NH} \rangle CH.$

Das Indoxyl, dessen Indican benannte Aetherschwefelsäure $C_8H_6N.O.SO_2.OH$ im Harn vorkommt, liefert die Hauptmenge des aus dem Harn darstellbaren Indigblaus und Indigroths.

Aus normalem und pathologischem Harn lässt sich, wie schon seit langer Zeit bekannt ist, blauer und rother Farbstoff gewinnen, welcher verschiedene Namen erhielt: Cyanurin (Braconnot), Uroglaucin und Urrhodin (Heller), Urokyanin (Martin), Harnblau (Virchow), und in dessen blauem Antheil von A. Hill Hassall, sowie von Sicherer Indigblau erkannt wurde. Schunck hielt die Substanz, von welcher das Indigblau abstammt, für identisch mit dem Chromogen der Indigpflanzen, dem Indican. Auch machte Schunck den ersten Versuch, das Indican aus dem Harn zu isoliren. Nachdem aber F. Hoppe-Seyler die Verschiedenheit des Harn- und Pflanzenindicans, und Jaffé durch Fütterungsversuche in dem Indol die Muttersubstanz des Harnindicans erkannt hatten, gelang Baumann der Nachweis, dass das Harnindican eine den Phenolschwefelsäuren analoge Aetherschwefelsäure eines Oxydationsproductes des Indols, des Indoxyls, ist. In Gemeinschaft mit Brieger und Tiemann hat Baumann[3]) dann weiter die Eigenschaften der Indoxylschwefelsäure festgestellt.

---

[1]) Wolkow u. Baumann, a. a. O. 245.

[2]) Baumann, Ztschr. f. physiol. Chem. 2. 344. — O. Kühling, Ueber Stoffwechselproducte aromatischer Körper. Diss. Berlin 1887; Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1888. 525.

[3]) Arth. Hill Hassall, Philos. Magaz. September 1853. — Sicherer, Ann. d. Ch. u. Pharm. **90**. 120. 1854. — Baumann, Pflüger's Archiv **13**. 304. 1876. — Baumann u. Brieger, Ztschr. f. physiol. Ch. **3**. 254. 1879; Ber. d. chem. Gesellsch. **12**. 2166. — Baumann u. Tiemann. Ber. d. chem. Gesellsch. **12**. 1098 und 1192. 1879; **13**. 408. 1880.

Neben der Indoxylschwefelsäure kommt noch ein zweiter Indoxylabkömmling, die Indoxylglykuronsäure, im Harn vor, von welcher, als leichter zersetzlicher Verbindung, das bei der Fäulniss des Harns auftretende Indigblau abstammt.

A. *Vorkommen.* Das Indoxyl ist ein Oxydationsproduct des Indols. (C_6H_4.NH.CH.CH), welches bei der Fäulniss von Eiweiss im Darm (und an anderen Körperstellen) entsteht. Die im Harn auftretende Verbindung desselben, die Indoxylschwefelsäure, findet sich in um so grösseren Mengen vor, je lebhafter die Eiweissfäulniss vor sich geht und je günstiger sich die Bedingungen für die Aufnahme des Indols in das Blut gestalten. Seine Menge wird bemessen nach der Menge der aus der Indoxylschwefelsäure entstehenden Menge Indigblau.

Wegen der Abwesenheit von Mikroorganismen im Darm Neugeborener findet sich in ihrem Harn kein Indican (Senator) und bei Brustkindern ist nach Hochsinger und Momidlowski[1]) der Harn in der Regel gleichfalls indicanfrei. Säuglinge, welche neben Frauenmilch auch Kuhmilch erhalten, haben trotz normaler Verdauung constant kleine Mengen Indican im Harn.

Beim Erwachsenen findet sich Indican nach den Untersuchungen von Heller Martin, Carter, Hoppe-Seyler, Jaffé, Senator u. A. in jedem normalen Harn des Menschen, ebenso im Harn der Fleischfresser und in sehr grosser Menge in dem der Pflanzenfresser, und zwar im Harn des Pferdes in grösserer Menge als in dem der Rinder, weil das Pferd einen grösseren Blinddarm besitzt. Im Harn der Kaninchen kommt es nach Rosin nicht vor. Aus der 24stündigen Harnmenge des Menschen können bei gemischter Kost 5—20 mg Indigblau gewonnen werden. Im Hunger (nach Müller beim Menschen, nicht bei Hund und Katze), bei vorwiegender Pflanzenkost (Stärkemehl, Erbsen, nach Fr. Müller[2]), sowie nach Genuss von Leim wird das Indican in geringster Menge ausgeschieden, nach eiweissreicher Kost, namentlich nach Genuss von Fleisch, unter normalen Verhältnissen in der grössten Menge. Im Harn von Hunden, deren Darm durch grosse Gaben Calomel entleert worden ist, findet sich nach Baumann[3]) keine Spur Indican vor.

Von den pathologischen Zuständen üben namentlich die im Dünndarm ablaufende Fäulniss und Stauungen des Darminhaltes daselbst einen steigernden Einfluss auf die Indicanausscheidung aus. (Jaffé, Ortweiler.) Es findet sich daher sehr viel Indican bei Ileus, in den meisten Fällen von Abdominaltyphus, Darmtuberculose, acuter und chronischer Peritonitis; die tägliche Indigblaumenge beträgt in diesen Zuständen 0,05—0,10, selbst 0,15 g. Eine oft beträchtliche Vermehrung findet sich ferner bei Cholera, einfachen Brechdurchfällen, Ulcus ventriculi, Magenerweiterung (Stokvis), Magen- und Darmkatarrh, Perityphlitis, Bleikolik und anderen Krankheiten mit Verdauungsstörungen. Bei Verschluss des Dickdarms tritt das Indican nur ausnahmsweise in vermehrter Menge auf und erscheint daher bei Diarrhöen im Gefolge von Dickdarmerkrankungen (Dysenterie etc.) nur in normaler Menge. Endlich ist das Indican auch bei Leber-, Magen- und Uteruscarcinom, auch wiederholt bei Melanose (Ganghofner und Přibram, Senator), — nach Injection von Melanin in die Bauchhöhle von Kaninchen sah Senator in ihrem Harn kein Melanin, aber viel Indican auftreten — bei putridem

---

1) Senator, Ztschr. f. physiol. Ch. **4**. 1. 1879. — C. Hochsinger, Wiener med. Presse, 40. 41. 1890. — St. Momidlowski, Jahrb. f. Kinderheilk. **36**. 192. 1893.

2) H. Rosin, Virchow's Archiv **123**. 536. 1891. — Fr. Müller, Virchow's Archiv **131**. Suppl. 134. 1893; Mittheilungen aus der medicinischen Klinik zu Würzburg. **2**. 348. 1886.

3) E. Baumann, Ztschr. f. physiol. Ch. **10**. 129. 1886.

Empyem und bei putrider Bronchitis in auffällig grösserer Menge gefunden worden (Ortweiler). — Bei fast allen Säuglingen mit Magen- und Darmerkrankung wird um so mehr und um so anhaltender Indican im Harn angetroffen, je schwerer das Leiden ist, bei Gastroenteritis stets viel (Hochsinger, Momidlowski, Gehlig, Cima, Djouritsch[1]).

Wie beim Gesunden verhält sich die Ausscheidung bei Nervenkrankheiten, Krankheiten der Circulations- und Respirationsorgane, Lebercirrhose (Stokvis), acuten Infectionskrankheiten, soweit sie nicht mit Fäulnissprocessen complicirt sind. Das Fieber an sich ist ohne Einfluss auf die Indicanausscheidung.

Opium bewirkt keine beträchtliche Steigerung. Abführmittel haben dagegen eine Verminderung zur Folge. Nach Unterbindung des Ausführungsganges des Pankreas sinkt beim Hunde, wie Pisenti[2]) angiebt, die Indicanmenge beträchtlich, nachträgliche Verfütterung von Pankreaspepton bewirkt darauf erhebliche Vermehrung.

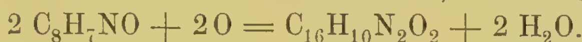
Neben viel Indican ist immer auch viel Phenol vorhanden, neben viel Phenol aber nicht immer viel Indican.

Indigblau und Indigroth sind auch in Harnsedimenten, sowie von Heller u. A. in Harnsteinen angetroffen worden; einen an den Indigfarbstoffen reichen Nierenstein hat Bloxam gefunden und Ord beschrieben, einen anderen, der in der Rinde Indigblau und Indigroth enthielt, hat Chiari[3]) gefunden und Hofmeister beschrieben.

B. *Eigenschaften.* 1. Das Indoxyl kann nach Heumann und Bachofen leicht dargestellt werden durch Erhitzen von Indigblau mit sehr concentrirtem Kalihydrat. Es entsteht ferner beim Schmelzen von Indoxyl-(carbon-)säure, $C_8H_6NO . COOH$, oder Erhitzen derselben mit Wasser (Baeyer[4]) sowie beim Behandeln von Indoxylschwefelsäure mit Salzsäure in der Wärme (Baumann).

2. Es bildet ein braunes fäculent riechendes Oel, das sich in heissem Wasser etwas mit gelblichgrüner Fluorescenz, aber in Alkalihydrat und wenig in verdünnten Säuren löst. Das Oel verliert nach kurzer Zeit seinen unangenehmen Geruch und condensirt sich bei Luftabschluss zu einem braunen amorphen Körper, welcher sich nicht in Wasser, aber in Alkohol, Aether, Chloroform mit rother Farbe löst.

3. Es ist ausgezeichnet durch seine leichte Oxydirbarkeit. Das mit Säure aus der Indoxylschwefelsäure abgeschiedene Indoxyl verwandelt sich schon durch den Sauerstoff der Luft theilweise in Indigblau und Indigroth, von denen nach Nencki[5]) das Indigroth vorwaltet.



$$2\ C_8H_7NO + 2\ O = C_{16}H_{10}N_2O_2 + 2\ H_2O.$$

---

[1]) Jaffé, Pflüger's Archiv **3**. 448. 1870. — L. Ortweiler, Mittheilungen aus der med. Klinik zu Würzburg **2**. 153. 1886. — Ganghofner u. Přibam, Prager Vierteljahrschr. **130**. 77. 1876. — Senator, Charité-Annalen 15; Jahresb. f. Thierch. 1891. 429. — Gehlig, Jahrb. f. Kinderheilk. **38**. 285; Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1895. 622. — F. Cima, Wiener med. Blätter 23. 1894; Djouritsch, Thèse, Paris 1893; Jahresb. f. Thierch. 1894. 635.

[2]) G. Pisenti, Arch. per le scienze med. **12**. No. 5; Jahresber. d. Thierch. 1887. 277.

[3]) Heller, dessen Archiv 1846. 21. — Ord, Berliner klin. Wochenschr. **15**. 365. 1878. — Chiari, Prager med. Wochenschr. 50. 1888. 541.

[4]) K. Heumann u. F. Bachofen, Berichte d. chem. Gesellsch. **26**. 225. 1893. — A. Baeyer, Berichte d. chem. Gesellsch. **14**. 1744. 1881.

[5]) Nencki, Berichte d. chem. Gesellsch. **9**. 299. 1876.

Eisenchlorid oxydirt es bei Gegenwart von Salzsäure schon in gelinder Wärme ebenso, während Eisenchlorid für sich einen weissen amorphen Niederschlag giebt, welcher sich in Berührung mit Salzsäure sofort in Indigblau und nur wenig Indigroth verwandelt. Ebenso verhält sich Chlor und Brom. Ausserordentlich rasch erfolgt seine Oxydation durch den Sauerstoff der Luft in alkalischer Lösung; eine solche überzieht sich alsbald mit einer Haut von Indigblau.

Ebenso erfolgt Indigblaubildung beim Erwärmen von Nitrophenylpropiolsäure mit einer Lösung von Indoxyl in Natriumcarbonat.

4. In concentrirter Schwefel- oder Salzsäure ist das Indoxyl nach Baeyer verhältnissmässig beständig, erwärmt man es dagegen mit verdünnter Salzsäure, so bildet sich unter Entwicklung eines unangenehmen Geruchs ein amorpher rother Körper. — Beim Erhitzen mit trocknem Baryumhydrat liefert das Indoxyl (indoxylschwefelsaure Kali) nach Baumann als einziges aromatisches Zersetzungsproduct Anilin, mit Brom giebt es Tribromanilin (aus wässriger Lösung amorpher brauner flockiger Niederschlag, Baumann[1]), bei der Oxydation mit übermangansaurem Kali eine Säure von den Eigenschaften der Anthranilsäure.

5. *Verbindungen.* a) Das Indoxyl vereinigt sich in alkoholischer Lösung mit Isatin auf Zusatz von Natriumcarbonat sogleich zu Indigroth (Baeyer, Forrer[2]).

b) Beim Erwärmen einer concentrirten Lösung von Indoxyl in Kali mit pyroschwefelsaurem Kali nach Baumann's Verfahren erhält man nach Baeyer[3]) das von Baumann und seinen Schülern aus Harn dargestellte indoxylschwefelsaure Kali $C_8H_6N . O . SO_2 . OK$.

Es bildet nach Diesen blendend weisse Tafeln und Plättchen, welche dem phenol- oder kresolschwefelsauren Kali sehr ähnlich sind, löst sich leicht in Wasser, sehr schwer in kaltem Alkohol, leichter in heissem. Lösungen des Salzes lassen sich beliebig oft abdampfen, bei Gegenwart von Kalilauge selbst mehrere Stunden auf 160—170° erhitzen, ohne dass sich die Säure zersetzt, in wässriger neutraler Lösung zerfällt das Salz aber bei 120—130° in saures schwefelsaures Kali und ein Gemenge von Indigblau und Indigroth. Mineralsäuren spalten schon in der Kälte, leichter beim Erwärmen, Indoxyl ab, welches sich an der Luft, schneller durch andere Oxydationsmittel in Indigblau und Indigroth verwandelt. Mit Essigsäure aber lässt sich eine Lösung des Salzes einige Zeit erhitzen, ohne dass sich die Säure zersetzt. Wird das Salz in einem trocknen Rohr schnell zum schwachen Glühen erhitzt, so sublimirt Indigo.

c) Die wenig bekannte Indoxylglykuronsäure (§ 14.) ist noch weniger beständig als die indoxylschwefelsauren Salze. Auf ihre Zer-

---

1) Baumann, Ztschr. f. physiol. Ch. 1. 62.

2) Baeyer, Berichte d. chem. Gesellsch. 14. 1745. — Forrer, daselbst 17. 976.

3) Baeyer, a. a. O.

setzung bezieht man die Abscheidung der Indigfarbstoffe aus Harn bei längerem Stehen desselben, beim Eindampfen und bei der alkalischen Harngährung.

C. *Darstellung* des indoxylschwefelsauren Kalis aus Harn. Es ist zwar möglich, wie G. Hoppe-Seyler gezeigt hat, das Salz aus normalem (Hunde-) Harn zu gewinnen, auch aus einem unter pathologischen Verhältnissen an Indican reichem menschlichen Harn ist es von Otto[1]) dargestellt worden; doch ist da die Ausbeute nur sehr gering. Zweckmässiger verarbeitet man daher Harn (von Hunden), welcher nach der Verabreichung von indoxylbildender Substanz (Indol nach Baumann und Brieger, Orthonitrophenylpropiolsäure nach G. Hoppe-Seyler) entleert worden ist.

a. Baumann und Brieger[2]) bedienten sich folgenden Verfahrens. Der Harn wurde zur Krystallisation verdampft, die braunrothe Mutterlauge mit Alkohol von 90⁰/₀ extrahirt, der alkoholische Auszug in der Kälte mit alkoholischer Oxalsäurelösung ausgefällt, nach 10 Minuten der Niederschlag abfiltrirt und das Filtrat sofort mit alkoholischer Kalilösung schwach alkalisch gemacht. Die abermals filtrirte Flüssigkeit wurde darauf auf etwa die Hälfte eingedampft, und nun mit dem gleichen Volumen Aether versetzt, wodurch ein reichlicher syrupöser Niederschlag entstand, der neben Salzen, Harnstoff, Extractivstoffen u. s. w. den grösseren Theil des Indicans enthielt. Dieser Syrup wurde wiederholt mit Alkohol von 96⁰/₀ extrahirt und die Auszüge mit dem gleichen Volumen Aether gefällt. Bei Wiederholung dieses Verfahrens mit den Auszügen blieb endlich aller Harnstoff in Lösung, während der Alkohol einen Theil der Extractivstoffe zurückliess. Zuletzt wurde die so gereinigte alkoholische Lösung mit so viel Aether versetzt, bis eine bleibende Trübung entstand; beim Stehen der Flüssigkeit in der Kälte schied sich das indoxylschwefelsaure Kali in Warzen mikroskopischer Tafeln an der Wand und in grossen durchsichtigen Tafeln in der Flüssigkeit selbst aus. Durch allmählichen weiteren Zusatz von Aether nahmen die Krystalle an Menge zu. Von zugleich abgeschiedener syrupöser Substanz liessen sie sich durch Abwaschen mit kaltem Alkohol befreien. Zuletzt wurden die Krystalle 1—2 mal aus heissem Alkohol umkrystallisirt.

b. Nach G. Hoppe-Seyler[3]) wird der Harn zum dünnen Syrup verdampft, mit 96 proc. Alkohol ausgefällt und das Filtrat mit dem gleichen Volumen Aether von 0,722 Dichte versetzt. Die nach 24 Stunden abgegossene klare Flüssigkeit wird in der Kälte mit alkoholischer Oxalsäurelösung ausgefällt, schnell filtrirt und mit concentrirter Lösung von kohlensaurem Kali schwach alkalisch gemacht. Vom Filtrat wird der Aether abdestillirt, der Rest (unter Erhaltung der alkalischen Reaction) zum dicklichen Syrup eingedampft, dieser in der Kälte mit der 15- bis 20 fachen Menge absoluten Alkohols aufgenommen und in einem verschlossenen Gefäss einen Tag stehen gelassen. Der dabei entstandene Niederschlag wird mit 96 proc. Alkohol ausgekocht und die Lösung der Krystallisation überlassen. Das Filtrat wird mit Aether gefällt, schnell von den zuerst ausfallenden Schmieren abgegossen und in der Kälte längere Zeit stehen gelassen. Die Krystallplättchen, welche sich bald aus den beiden Lösungen ausscheiden, werden durch Umkrystallisiren aus heissem Alkohol gereinigt. — Zur Darstellung des Salzes aus normalem Hundeharn verwendete Hoppe-Seyler 25 *l* desselben.

---

[1]) G. Hoppe-Seyler, Ztschr. f. physiol. Ch. **8**. 79. 1883. — Jac. G. Otto, Pflüger's Archiv **33**. 612. 1884.

[2]) Baumann u. Brieger, Ztschr. f. physiol. Ch. **3**. 255. 1879.

[3]) G. Hoppe-Seyler, a. a. O. **7**. 423. 1883.

c. Die älteren Methoden, nach welchen das Indican aus dem Harn durch essigsaures Blei und Ammoniak gefällt wird, liefern nur ein sehr unreines Präparat.

D. *Nachweis.* 1. Nach Jaffé[1]) wird das Indican in stark saurer Lösung mit unterchlorigsaurem Salz oxydirt. Das sich ausscheidende Indigblau führt man nach Stokvis durch Schütteln mit Chloroform in dieses über.

Man setzt in einem Reagensglas zu Harn dasselbe Volumen concentrirter Salzsäure sowie einige Cubikcentimeter Chloroform und darauf eine concentrirte Chlorkalklösung oder verdünnte Lösung von unterchlorigsaurem Natron Tropfen um Tropfen, indem man nach dem Zusatz jeden Tropfens tüchtig umschüttelt. Das Chloroform färbt sich dabei allmählich blau. Ein sehr kleiner Ueberschuss von Chlorkalk thut der Reaction keinen wesentlichen Eintrag, ein grösserer bringt aber das Indigblau durch Oxydation desselben zu einem farblosen Körper wieder zum Verschwinden oder lässt es gar nicht erst zum Vorschein kommen. Wie mit unterchlorigsaurem Salz kann man die Oxydation auch durch vorsichtigen Zusatz von schwachem Chlor- oder Bromwasser vornehmen.

Eiweisshaltiger Harn ist vor der Probe vom Eiweiss zu befreien. Sehr dunkler Harn lässt sich durch Fällen mit Bleiacetat für die Probe geschickter machen.

2. Das Chloroform bildet mit dem Harn eine sich schwer scheidende Emulsion. Obermayer[2]) hat deshalb das Verfahren in zweckmässiger Weise dahin abgeändert, dass er den Harn vor der Oxydation mit concentrirter Bleizuckerlösung ausfällt. Die Oxydation wird durch Eisenchlorid vorgenommen. Das Chloroform setzt sich als klare Schicht am Boden des Glases ab.

Es muss ein Ueberschuss von Bleisalz vermieden werden, weil sich sonst bei dem nachfolgenden Zusatz von Salzsäure Chlorblei abscheidet, welches das Chloroform trübt. Von einer 20 proc. Bleizuckerlösung braucht man ungefähr $^1/_5$ Volumen. Das Fällen mit dem Bleisalz hat nicht blos den Vortheil der Beseitigung der emulsionbildenden Substanz, sondern auch den, dass die Reaction störende fremde Farbstoffe (Gallenfarbstoff) entfernt werden. Das Filtrat von dem Bleiniederschlag schüttelt man mit dem gleichen Volumen rauchender (roher) Salzsäure, in welcher auf 1 Ltr. 2—4 g Eisenchlorid aufgelöst sind, und der nöthigen Menge Chloroform 1—2 Min. lang. Es tritt auch hier Indigroth auf, welches mit in das Chloroform übergeht.

3. Die blosse Zersetzung des Indicans durch concentrirte Schwefelsäure (Heller) oder durch Salzsäure in gelinder Wärme (Stokvis) schliesst zwar die Gefahr einer zu weit gehenden Oxydation des Indicans aus, liefert aber weniger Indigfarbstoff und neben dem Indigblau auch Indigroth.

In allen diesen Fällen beweist das Auftreten der blauen Farbe allein die Anwesenheit des Indigblaus; die spectroskopische Untersuchung kann in zweifelhaften Fällen zur Bestätigung herangezogen werden. Wenn es darauf ankommt, kann man dem Chloroform beigemischtes Urobilin durch Schütteln mit verdünntem Ammoniak oder Natriumcarbonat entziehen.

Enthält der Harn Jodide, so färbt das bei der Probe freiwerdende Jod das Chloroform violett; man beseitigt dieses nach Renault durch nachträglichen Zusatz einer Lösung von unterschwefligsaurem Natron. — Nach der Verabreichung

---

1) Jaffé, Pflüger's Archiv 3. 448

2) F. Obermayer, Wiener klin. Wochenschr. 9. 1890. 176.

von Thymol wird der Harn nach Blum[1]) auf Zusatz von Salzsäure allein blaugrün; er enthält ein in Aether unlösliches, in Alkohol lösliches Chromogen, dessen alkoholische Lösung mit Salzsäure blau und darauf bei Uebersättigen mit Alkali purpurroth wird.

VI. Skatoxyl.



$C_9H_8N \cdot OH$.

A. *Vorkommen.* Nach der Einverleibung von Skatol, wie sie von Brieger vorgenommen worden ist, tritt bei Hunden, Kaninchen und Fröschen eine Aetherschwefelsäure auf, welche sich ganz ähnlich wie die Indoxylschwefelsäure verhält, von ihr aber verschieden ist und die deshalb, wiewohl ihre Zusammensetzung nicht bekannt ist, als Skatoxylschwefelsäure bezeichnet wird. In ähnlichen Versuchen sah Mester[2]) zwar anfangs auch viel Aetherschwefelsäure auftreten, später aber ein anderes Skatolderivat, vielleicht Skatoxylglykuronsäure.

Ob im normalen Harn Skatolderivate (neben den beiden genannten vielleicht auch Skatolcarbonsäure) vorkommen, ist zweifelhaft, wiewohl das Skatol einen constanten Bestandtheil der menschlichen Fäces bildet. Denn das einzige Anzeichen hierfür, das Auftreten eines rothen Farbstoffs bei der Anstellung der Indicanprobe, kann mit viel mehr Grund auf die Bildung von Indigroth bezogen werden.

Aus dem Harn eines an Verdauungsstörungen leidenden Diabetischen hat Otto die Skatoxylschwefelsäure in grösserer Menge dargestellt. Ob die von Leube und von Thormählen[3]) wahrgenommenen rothen Farbstoffe etwas mit dem Skatolroth gemein haben, ist nicht zu entscheiden.

B. *Eigenschaften.* 1. Das Skatoxyl ist nicht bekannt.

2. Das skatoxylschwefelsaure Kali, $C_9H_8N \cdot O \cdot SO_2 \cdot OK$, krystallisirt nach Brieger und nach Otto in zusammenhängenden kleinen Knollen und löst sich in Wasser, schwerer in Alkohol. Beim Erhitzen für sich entwickeln die Krystalle rothe Dämpfe und liefern Kaliumsulphat. Eisenchlorid färbt die Lösung stark violett, concentrirte Salpetersäure roth. Versetzt man die Lösung mit $^1/_3$ Vol. concentrirter Salzsäure, so entsteht unter Bildung von freier Schwefelsäure ein amorpher rother Niederschlag.

In dem Salz wurde von Otto 5,37 % N und 36,78 % H_2SO_4 gefunden, während die Formel 5,28 % N und 37,00 H_2SO_4 verlangt.

---

1) L. Renault, Chem. Centralbl. 1888. 500. — F. Blum, Deutsche med. Wochenschr. 1891. 186.

2) L. Brieger, Ber. d. chem. Gesellsch. **10**. 1031. 1877; **12**. 1985. 1879; Ztschr. f. physiol. Ch. **4**. 416. — B. Mester, Ztschr. f. physiol. Ch. **12**. 130. 1888.

3) Jac. G. Otto, Pflüger's Archiv **33**. 615. 1884. — W. Leube, Virchow's Archiv **106**. 418. 1886. — Joh. Thormählen, daselbst **108**. 317. 1887.

3. Der Niederschlag, welchen die Lösung eines skatoxylschwefelsauren Salzes mit Salzsäure giebt, ist nach Brieger roth, der aus Skatolharn erhaltene schmutzig violett. Er löst sich nicht in Wasser und in Alkohol, aber in Aether mit burgunderrother Farbe. Beim Verdunsten der alkoholischen Lösung bleibt ein brauner, in Wasser und in Aether, aber auch in Alkohol unlöslicher Rückstand. Der ursprüngliche Farbstoff löst sich auch in concentrirter Schwefelsäure mit weinrother Farbe. Beim Erhitzen des Farbstoffes oder seiner in Alkohol unlöslich gewordenen Modification mit Zinkstaub entwickelt sich der Geruch nach Skatol und bildet sich ein Sublimat. Das spectroskopische Verhalten des Farbstoffs ist nicht ermittelt.

Mester versuchte aus dem Hundeharn, den er nach Verfütterung von Skatol erhielt, nach dem von G. Hoppe-Seyler für die Darstellung der Indoxylschwefelsäure angegebenen Verfahren (S. 165) vergeblich Skatoxylschwefelsäure darzustellen. Von der alkoholischen Lösung des Chromogens wurde ein Theil mit concentrirter Salzsäure versetzt, der in schwach gefärbten Flocken ausfallende Niederschlag in Aether gelöst, der Aether auf dem Wasserbade zum grössten Theil verdunstet und der Farbstoff mit Wasser gefällt. Wird das Eindampfen der ätherischen Lösung zu weit getrieben, so wandelt sich der Farbstoff in eine braunrothe, später kohlschwarze, in Aether nicht mehr lösliche Masse um. Ein anderer Theil der alkoholischen Lösung wurde mit neutralem essigsauren Blei versetzt, mit Schwefelwasserstoff vom Blei, durch Erhitzen vom Schwefelwasserstoff befreit und der Farbstoff mit Salzsäure gefällt. Bei der Entstehung des Farbstoffs findet eine Oxydation durch den atmosphärischen Sauerstoff statt, welche nicht eintritt, wenn die Chromogenlösung mit Zinn und Salzsäure versetzt wird.

Der Farbstoff ist amorph; nach dem Trocknen über Schwefelsäure giebt er bei 100^0 noch gegen $10\,^0/_0$ Wasser ab. Die Analysenresultate dreier verschiedener Präparate wichen zum Theil sehr erheblich von einander ab. Der frisch aus der Chromogenlösung abgeschiedene Farbstoff ist nur schwach gefärbt, er nimmt aber bald eine dunkelviolette, später unter der Einwirkung der Luft eine mehr braune Farbe an. Er besitzt basische und saure Eigenschaften; in Salzsäure und Schwefelsäure löst er sich mit kirschrother, in Alkalien und Ammoniak mit gelber Farbe. In Alkohol und Amylalkohol löst er sich mit dunkelvioletter Farbe, auch löst er sich in Aether und in Chloroform, dagegen nicht in Wasser. Der einige Zeit an der Luft aufbewahrte Farbstoff löst sich im Gegensatz zum frisch bereiteten in Aether nur wenig, besser nach einem geringen Zusatz von Säure, während ein Ueberschuss derselben ihn dem Aether wieder entzieht. Wird Aether mit einer alkalischen Lösung des Farbstoffs geschüttelt, so nimmt der Aether zunächst eine schöne grüne, unter dem Einfluss der Luft bald eine mehr röthliche Fluorescenz an.

Die von der Skatolkohlensäure abstammenden rothen Farbstoffe sind bei dieser (§ 25.) beschrieben.

C. Die *Darstellung* des skatoxylschwefelsauren Kalis erfolgt in derselben Weise wie die des indoxylschwefelsauren Salzes.

D. *Nachweis.* An Skatoxyl reiche Harne dunkeln wie Carbolharne an der Luft von der Oberfläche aus stark und nehmen dabei eine röthliche oder violette, fast schwarze Farbe an. Sie färben sich bei der Jaffé'schen Indicanprobe schon bei Zusatz von Salzsäure dunkelroth bis violett, mit Salpetersäure allein oder auf nachträglichen Zusatz von sehr wenig salpetrigsaurem Kali kirschroth, mit Eisenchlorid direkt oder auf den

nachträglichen Zusatz von Salzsäure beim Erwärmen gleichfalls roth. Auch beim Kochen des Harns für sich scheidet sich der Farbstoff ab. Durch Aether lässt er sich dem Harn theilweise entziehen.

Diese Reactionen schliessen eine Verwechslung mit anderen rothen Farbstoffen, namentlich mit Indigroth, nicht aus. Um die Anwesenheit des Skatols zu erweisen, ist es nöthig, den Farbstoff mittelst der Jaffé'schen Indicanprobe abzuscheiden und ihn namentlich darauf zu prüfen, ob er beim Erhitzen mit Zinkstaub Skatol liefert und nicht, wie das entsprechende Indoxylderivat, Indol. Die bekannten Reactionen des Indols und des Skatols sind unten zusammengestellt. Damit wird aber nur entschieden, ob eine Skatolverbindung vorliegt. Zur sicheren Unterscheidung der Skatoxylschwefelsäure von der Skatoxylglykuronsäure und der Skatolcarbonsäure bliebe nur die Reindarstellung des Kaliumsalzes übrig.

Das Indol bildet Plättchen, welche bei 52° schmelzen und sich ziemlich leicht in heissem Wasser, leicht in Alkohol, in Aether und in Kohlenwasserstoffen lösen. Es riecht fäculent. Mit Wasserdämpfen verflüchtigt es sich leicht. — Eine Lösung von Indol in Ligroin, nicht aber in Benzol, giebt mit einer Pikrinsäurelösung einen schön rothen Niederschlag, der aus heissem Benzol oder Ligroin in rothen Nadeln krystallisirt. — Auf Zusatz von Salpetersäure und wenig Kaliumnitrit oder von verdünnter rauchender Salpetersäure entsteht in einer Indollösung ein krystallinischer rother Niederschlag von salpetersaurem Nitrosoindol; die Lösung desselben zeigt nach Krukenberg Absorption zwischen b und F. Das Nitrosoindol giebt nach Salkowski beim Erwärmen mit verdünnter Natronlauge und Zinkstaub eine farblose Lösung, die an der Luft blau wird. — Beim Kochen mit Salpetersäure färbt sich Indollösung, wenn nicht rauchende Salpetersäure angewendet wird, nach Salkowski nur schwierig gelb. Mit Millon'schem Reagens giebt Indol einen terracottafarbenen Niederschlag und eine gelbe Lösung, mit dem Axenfeld'schen Eiweissreagens (Chlorgold und Ameisensäure) färbt es sich violett (Pickering). — Bei der Legal'schen Acetonprobe (S. 60) giebt Indol zunächst eine schmutzigbraune (Legal), nach Béla v. Bittó eine schön röthlich violette Färbung, welche beim Ansäuern mit organischen Säuren schön azurblau (Legal), durch Mineralsäuren aber nicht verändert wird (Bittó); die Lösung zeigt nach Krukenberg[1]) vor dem Ansäuern eine starke Verdunkelung des Spectrums, die zwischen C und D beginnt und bis E reicht, nach dem Ansäuern Absorption zwischen C und D.

Wenn mit Ammoniak alkalisch gemacht wird, statt mit fixem Alkali, so ist das Absorptionsband nach Hemala[2]) rothwärts verschoben; Schwefelalkalien und Mercaptan bieten dieselben Erscheinungen dar. Von der ähnlichen Reaction mit Aceton oder Acetessigsäure unterscheidet sich die Indolreaction dadurch, dass das Aceton bei Verwendung von fixem Alkali kein Absorptionsband zeigt, aber bei Verwendung von Ammoniak.

---

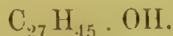
1) Krukenberg, Würzburger physik-med. Verhandl. N. F. **18**. 192 u. 201. 1884. — Salkowski, Ztschr. f. physiol. Ch. **9**. 24. — J. W. Pickering, Journ. of Physiol. **14**. 371 u. 376. 1893. — Salkowski, a. a. O. **12**. 218. — Legal, Breslauer ärztl. Ztschr. 3. u. 4. 1883. — Béla v. Bittó, Ann. d. Ch. **267**. 378. 192. — Krukenberg, Chemische Unters. **2**. 136.

2) Hemala, Krukenberg's Chem. Unters. 1888. 117; Jahresb. f. Thierch. 1889. 89.

Benetzt man einen Fichtenspahn mit einer salzsäurehaltigen alkoholischen Indollösung, so färbt er sich kirschroth (Baeyer). — Schüttelt man eine mit Salzsäure stark angesäuerte Lösung mit einigen Tropfen verharztem dicken Terpentinöl, so färbt sich die Flüssigkeit nach Krukenberg allmählich roth; Aether entzieht den Farbstoff der Lösung; die ätherische Lösung zeigt Absorption auf b. — Versetzt man eine Lösung von Indol in Eisessig mit concentrirter Schwefelsäure, so färbt sie sich nach Salkowski sowie nach Pickering schön violett und fluorescirt schwach grün (Eiweissprobe von Adamkiewicz). — Indol giebt mit Brom einen krystallinischen Niederschlag. — Mit m-Dinitrophenol und mit alkoholischer Pikrinsäurelösung giebt Indol keine Reaction (Béla v. Bittó[1]).

Das Skatol bildet Plättchen vom Schmelzpunkt 95^0, löst sich schwerer in Wasser als Indol, riecht fäculent. — Das Pikrat, aus heisser wässriger Lösung erhalten, bildet rothe Nadeln. — Salpetrige Säure giebt in der wässrigen Lösung nur eine weissliche Trübung. — Giebt nach Salkowski mit Salpetersäure von 1,2 Dichte eine starke Xanthoproteïnreaction. — Löst sich in concentrirter Salzsäure mit violetter Farbe, seine schwefelsaure Lösung wird nach Ciamician und Magnanini prachtvoll purpurroth. — Reines Skatol färbt einen mit Salzsäure befeuchteten Fichtenspahn nicht. Tränkt man aber einen Fichtenspahn mit einer Lösung von Skatol in verdünntem Alkohol, und taucht ihn darauf in starke Salzsäure, so wird er kirschroth, später blauviolett (E. Fischer). — Versetzt man eine Skatollösung mit einer Spur Furfurol und schichtet sie auf concentrirte Schwefelsäure, so färbt sich die Flüssigkeit röthlich braun (v. Udránszky[2]). — Gegen Eisessig und Schwefelsäure verhält sich das Skatol wie das Indol (Salkowski, Pickering). — Bei der Millon'schen Reaction giebt es einen orangefarbenen Niederschlag in gelber Flüssigkeit. Das Axenfeld'sche Eiweissreagens wird durch Skatol sofort reducirt (Pickering).

§ 8. Cholesterin.


$C_{27}H_{45} . OH$.

A. *Vorkommen.* Das Cholesterin findet sich im Harn als Begleiter des Fetts bei Chylurie und anderen Zuständen, welche einen reichlichen Gehalt des Harns an Fett bedingen, scheint aber sonst sehr selten im Harn vorzukommen.

v. Krusenstern hat den Harn von Schwangeren, nach reichlicher Mahlzeit, bei der Zuckerharnruhr und bei Icterus vergeblich auf Cholesterin untersucht. Poehl[3]) giebt an, es bis zu 0.25% im Harn eines Epileptikers gefunden zu haben, der längere Zeit mit grossen Dosen Bromkalium behandelt worden war.

Auch in Form von Concrementen ist es in der Harnblase gefunden worden. Güterbock entnahm der Harnblase einer Frau Steinfragmente im Gewicht von 13 g, welche nach den Analysen von Schultzen und von Liebreich hauptsächlich aus Cholesterin bestanden, ausserdem Gallenfarbstoff, Kalkphosphat und Harnstoff enthielten; der eine der Steine war mit einer Harnsäurekruste überzogen. — Horbaczewski analysirte einen 25,4 g schweren birnenförmigen, wenig gefärbten

---

1) Krukenberg, Verhandl. a. a. O. 184. — Salkowski, a. a. O. 12. 221. — Pickering, a. a. O. 370. — Béla v. Bittó, Ann. d. Ch. 269. 382. 1892.

2) Salkowski, a. a. O. 12. 218. — Ciamician u. Magnanini, Ber. d. chem. Gesellsch. 21. 1928. — E. Fischer, Ann. d. Ch. 236. 140. — v. Udránszky, Ztschr. f. physiol. Ch. 12. 355.

3) U. v. Krusenstern, Virchow's Archiv 65. 410. 1875. — A. Poehl, Petersburger med. Wochenschr. 1. 1877.

Stein aus der Harnblase eines Mädchens, der zu 95,84% aus Cholesterin bestand und ausserdem Gallenfarbstoff, Eiweiss, Kalk, Kohlensäure und Phosphorsäure enthielt. — Im Harn und in der Flüssigkeit aus einem durch einen Harnstein verschlossenen stark erweiterten Ureter fand Glinski[1]) neben Blut und Eiterkörperchen Cholesterintafeln; er leitet das Cholesterin aus zerfallenen Blut- und Eiterkörperchen ab.

B. *Eigenschaften.* 1. Das Cholesterin, nach Reinitzer's Ermittelung $C_{27}H_{45}.OH$, löst sich nicht in Wasser, nicht in Alkalien oder verdünnten Säuren oder in kaltem Alkohol, leicht dagegen in heissem Alkohol, in Aether, Petroläther, Chloroform. Aus heissem Alkohol krystallisirt es beim Erkalten mit 1 Mol. H_2O in grossen rhombischen Tafeln, aus wasserfreiem Aether, Chloroform oder Petroläther wasserfrei in feinen seidenglänzenden Nadeln. Die spitzen Winkel der rhombischen Tafeln des Cholesterins messen 76° 30′ oder 87° 30′. Das wasserfreie Cholesterin schmilzt bei 145°. Es dreht die Ebene des polarisirten Lichtes nach links und zwar beträgt für wasserfreies Cholesterin in ätherischer Lösung mit 2 Gramm in 100 cc $[\alpha]_D$ = — 31,12°, in Chloroformlösung mit 2—8 Gramm in 100 cc nach Hesse[2]) $[\alpha]_D = -(36,61 + 0.249\ p)$, wo p den Gehalt in Grammen in 100 cc bedeutet.

2. Beim Kochen mit alkoholischer Kalilösung bleibt das Cholesterin unverändert.

3. Concentrirte Schwefelsäure führt es in rothe und blaue Substanzen über (Cholesteriline). — Beim Behandeln mit Säureanhydriden liefert es Ester.

4. Farbenreactionen.

a. Lässt man zu Cholesterin auf dem Objectträger concentrirte Schwefelsäure treten, am Besten mit $^1/_5$ Volumen Wasser verdünnte, so schmelzen die Tafeln ein und ihre Ränder färben sich carminroth (Moleschott[3]); bei nachträglichem Zusatz von wässriger Jodlösung geht das Roth in Violett über.

b. Löst man etwas Cholesterin in wenig Chloroform, setzt dann das etwa gleiche Volumen concentrirte Schwefelsäure (oder nach Hesse besser solche von 1,76) hinzu und schüttelt um, so färbt sich die Chloroformlösung schnell blutroth, dann schön kirschroth bis purpurn, eine Färbung, die sich Tage lang unverändert erhält. Die unter dem Chloroform stehende Schwefelsäure zeigt gleichzeitig eine starke grüne Fluorescenz. Statt des Chloroforms kann man nach Burchard als Lösungsmittel auch Chlorbenzol, Chlortoluol, Aethylen- und Methylenchlorid anwenden. Giesst man etwas der Chloroformlösung in eine Schale, so färbt sie sich durch Wasseranziehung schnell blau, dann grün, endlich gelb

---

1) L. Güterbock, Virchow's Archiv **66**. 273. 1876. — J. Horbaczewski, Ztschr. f. physiol. Ch. **18**. 339. 1893; Jahresb. f. Thierch. 1893. 584. — A. Glinski, Wratsch, 35. 1892. 972; Jahresb. f. Thierch. 1893. 584.

2) F. Reinitzer, Monatsh. f. Ch. **9**. 421. 1888. — O. Hesse, Ann. d. Chemie **192**. 178. 1878.

3) Moleschott, Wiener med. Wochenschr. 1855. 129.

(Salkowski). So lang die Lösung noch roth ist, zeigt sie nach Krukenberg[1]) ein breites Absorptionsband zwischen C und D, und wenn sie amethystfarben geworden ist, einen starken Streifen auf D, einen schwachen zwischen D und E, näher bei E, und einen starken zwischen b und F.

c. Versetzt man nach Liebermann[2]) eine Lösung von Cholesterin in Essigsäureanhydrid unter Abkühlen tropfenweise mit concentrirter Schwefelsäure, so wird sie erst rosenroth, dann ziemlich beständig blau. Nach Burchard[1]) geht die Farbe bei Gegenwart von nur wenig Cholesterin zuletzt in ein beständiges Grün über. Die Reaction gelingt nach Burchard ebenso gut, wenn man statt des reinen Cholesterins eine Lösung von Cholesterin in Chloroform oder in Amylchlorid, Methylenchlorid, Acetylchlorid, Chlorbenzol, Benzol, Toluol, Xylol, Petroläther, Aether, Buttersäure und anderen wasserfreien Lösungsmitteln mit Essigsäureanhydrid und Schwefelsäure versetzt. Statt des Essigsäureanhydrids lassen sich auch die Anhydride der Phtalsäure, Benzoësäure und Isobuttersäure verwenden. Am Besten setzt man zu 2 cc der Chloroformlösung 10 Tropfen Essigsäureanhydrid und einen Tropfen concentrirte Schwefelsäure. Die Reaction gelingt noch mit 0,1 mg Cholesterin.

d. Geschmolzener Propionsäure-Cholesterinester wird nach Obermüller[3]) beim langsamen Erkalten zuerst violett, dann allmählich blau, grün, dunkelgrau, orange, carminroth und kupferroth. Die blaue und grüne Farbe erhalten sich längere Zeit scharf. Andere Alkohole, sowie die dem Cholesterin nahe stehenden Terpene geben die Reaction nicht. Man stellt sie so an, dass man (eine ganz kleine Menge) bei 100° getrocknetes Cholesterin in einem trockenen Reagensglas mit (2—3 Tropfen) Propionsäureanhydrid vorsichtig schmilzt. Den Farbenwechsel nimmt man am Besten an einem Glasstabe vor einem dunklen Hintergrund wahr.

e. Fügt man der Lösung eines Stückchens Cholesterin in 1 cc Alkohol 1 Tropfen 0,5 proc. Furfurolwasser hinzu, lässt unter die Mischung 1 cc concentrirte Schwefelsäure fliessen und die Temperatur nicht über 50° steigen, so färbt sich die Flüssigkeit lebhaft roth, später blau (v. Udránszky[4]). Der Alkohol darf sich nicht selbst mit Schwefelsäure färben; ist dies der Fall, so muss er mit Thierkohle behandelt und destillirt werden.

C. *Nachweis.* Man behandelt den Harn wie zur Darstellung des Fettes mit Aether (§ 10. b.); lässt sich das Cholesterin nicht im Rückstand des Aetherauszuges unmittelbar mit dem Mikroskop erkennen, so hält man die alkoholische Lösung dieses Rückstands nach Zusatz von etwas festem Kaliumhydrat auf dem Wasserbad einige Zeit im Kochen. Man verdunstet die Lösung darauf, löst die gebildete Seife in Wasser, schüttelt sie mit Aether aus, verdunstet die Aetherlösung, löst den Rückstand in siedendem Alkohol und überlässt das Filtrat, das durch Verdunsten auf ein kleines Volumen gebracht werden kann, der Krystallisation.

Sehr dünne rhombische Tafeln mit annähernd den angegebenen Winkelverhältnissen können kaum etwas Anderes sein als Cholesterin; in zweifelhaften Fällen giebt eine oder die andere der Farbenreactionen des Cholesterins (B. 3) Aufschluss.

---

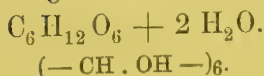
1) O. Hesse, Ann. d. Chemie **211**. 284. 1882. — Salkowski, Pflüger's Archiv **6**. 207. — H. Burchard, Beiträge zur Kenntniss der Cholesterine. Diss. Rostock 1889; Jahrb. f. Thierch. 1889. 85. — Krukenberg, Chem. Untersuchungen 1886. 108.

2) C. Liebermann, Ber. d. chem. Gesellsch. **18**. 1804. 1885.

3) Obermüller, Du Bois' Arch. 1889. 556; Zeitschr. f. physiol. Ch. **15**. 39. 1890.

4) L. v. Udránszky, Ztschr. f. physiol. Ch. **12**. 355. 1888.

§ 9. Inosit.



$C_6H_{12}O_6 + 2\ H_2O.$

$(—CH.OH—)_6.$

Syn.: Hexahydro-hexoxybenzol.

A. *Vorkommen.* Der Inosit kommt zuweilen in kleiner Menge im Harn bei Albuminurie und bei Diabetes mellitus vor (Neukomm, Gallois), ferner nach übermässiger Zufuhr von Wasser (Külz); in einem diabetischen Harn sah Vohl[1]) den Inosit allmählich an Stelle des Traubenzuckers treten.

B. *Eigenschaften.* 1. Der Inosit ist kein Zucker, es gehen ihm alle chemischen Eigenschaften dieser ab. Nach den Untersuchungen von Maquenne[2]) ist er vielmehr als Hexahydroxybenzol aufzufassen und als solches unter den Verbindungen der Fettreihe eher dem Mannit zu vergleichen.

2. Er bildet meistens blumenkohlartig gruppirte Krystalle, die aber auch zuweilen einzeln anschiessen und dann 3—4 Linien lang werden. Die Krystalle gehören dem klinorhombischen System an. Sein Krystallwasser (16,67 %) verliert er an trockener Luft oder bei 100°. Er sintert bei 210° und schmilzt bei 217° (Tambach, Maquenne; bei 225°, Fick). Sein Geschmack ist süss. Er löst sich in 7,5 Vol. Wasser von 17—21° (Fick), viel schwerer in Alkohol, leicht in heissem Wasser, bildet aber nie syrupöse Lösungen. Er löst sich auch leicht in verdünnter oder concentrirter Essigsäure und krystallisirt aus dieser Lösung leichter als aus Wasser (Maquenne). In absolutem Alkohol und in Aether ist er unlöslich. Seine Lösungen sind optisch inactiv, werden auch nicht activ, wenn man Penicillium glaucum auf ihnen wachsen lässt (Maquenne). Mit Phenylhydrazin giebt er keine Verbindung (E. Fischer[2]).

3. Neutrales essigsaures Bleioxyd fällt eine Inositlösung nicht, auf Zusatz von Bleiessig dagegen entsteht, namentlich leicht beim Erwärmen eine durchsichtige Gallerte, $(C_6H_{11}O_6)_2Pb, 4PbO$ (Cloëtta, Kraut), die in wenigen Augenblicken weiss wird und das Aussehen von Kleister annimmt; nach dem Waschen mit Wasser und Alkohol trocknet der Niederschlag zu einer gelblichen zerreiblichen Masse ein.

4. Beim Kochen mit Alkalihydrat oder dem Hydrat einer alkalischen Erde wird der Inosit nicht verändert, seine Lösungen färben sich nicht gelb.

---

1) Vohl, Arch. f. physiol. Heilk. [2] 2. 410. 1858.

2) R. Tambach. Pharmac. Centralhalle 37. 167; Chem. Centralbl. 1896. 1. 932. — Maquenne, Bull. de la Soc. chim. [2] 47. 290; 48. 58. 1887; Comptes rendus 104. 225. 297. u. 1719. — R. Fick, Chem. Centralbl. 1887. 453 — E. Fischer, Ber. d. chem. Gesellsch. 17. 579. 1884.

Inosit löst bei Gegenwart von Alkalihydrat Kupferhydrat zu einer blauen Flüssigkeit, die sich beim Kochen nicht verändert, dagegen reducirt er nach Tambach alkalische Silberlösung. — Die Furfurolreaction der Kohlenhydrate giebt er nach Luther[1]) nicht.

5. Verdünnte Salpetersäure greift den Inosit nicht an, überschüssige concentrirte Salpetersäure oxydirt ihn aber u. A. zu Rhodizonsäure, $C_6(OH)_2O_2$, (Maquenne). Darauf beruhen folgende drei Reactionen.

a. Wird eine Inositlösung mit concentrirter Salpetersäure auf dem Platinblech (oder in einem Schälchen) bis fast zur Trockne verdunstet, der Rückstand darauf mit etwas Ammoniak (zur Beseitigung der noch vorhandenen Salpetersäure) und Chlorcalciumlösung befeuchtet und wieder mit Vorsicht zur Trockne abgeraucht, so entsteht eine lebhaft rosenrothe Färbung von rhodizonsaurem Kalk, die selbst noch bei 1 mg Inosit sichtbar ist (Scherer[2]) — Die Kohlenhydrate geben diese Reaction nicht.

Nach Boedeker[3]) ist der Zusatz des Ammoniaks nicht nur überflüssig, sondern sogar schädlich; in vielen Fällen wird der Rückstand bei Anwendung von Ammoniak braun, ohne Ammoniak dagegen zart rosenroth. — Wenn die Färbung nicht gleich eintritt, darf man das Erhitzen nicht zu früh einstellen.

b. Dampft man Inosit mit überschüssiger Salpetersäure zur Trockne ein, löst den Rückstand in wenig Wasser und fügt wenig Strontiumacetat zu, so färbt sich die Flüssigkeit violett (Seidel). Nach Fick tritt diese Reaction noch mit 0,3 mg Inosit ein.

c. Verdunstet man eine Inosit enthaltende Flüssigkeit in einer Porzellanschale bis auf wenige Tropfen und setzt darauf ein Tröpfchen einer Lösung von salpetersaurem Quecksilberoxyd hinzu, so entsteht zunächst ein gelblicher Niederschlag. Breitet man diesen möglichst auf der Wand der Schale aus und erwärmt weiter mit grosser Vorsicht, so bleibt, sobald alle Flüssigkeit verdunstet und man nicht zuviel von dem Reagens zugesetzt hat, zuerst ein weisslich-gelber Rückstand, der bald, je nach der Menge des vorhandenen Inosits, mehr oder weniger dunkelroth wird. Die Farbe verschwindet beim Erkalten, kommt jedoch nach gelindem Erwärmen wieder zum Vorschein (Gallois[4]).

Harnsäure, Harnstoff, Stärkemehl, Milchzucker, Mannit, Glykokoll, Taurin, Cystin und Glykogen geben diese Reaction nicht. Albumin färbt sich rosa, Zucker färbt sich schwarz, beide dürfen daher nicht zugegen sein (Gallois). Die Reaction ist zuverlässig (Neubauer).

Zur Darstellung der Quecksilberlösung löst man 1 Theil Quecksilber in 2 Theilen gewöhnlicher Salpetersäure, verdampft auf die Hälfte und versetzt mit $1^1/_2$ Theilen Wasser. Nach 24 Stunden giesst man die klare Lösung von dem basischen Salz ab.

6. Durch Bierhefe wird der Inosit nicht in Gährung versetzt; aber er geht die Milchsäure- und Buttersäuregährung ein; die aus Inosit entstandene Milchsäure ist nach Hilger Fleischmilchsäure, nach Vohl[5]) dagegen gewöhnliche Gährungsmilchsäure.

---

1) E. Luther, Vorkommen der Kohlenhydrate im normalen Harn. Diss. 1890. 28.

2) Scherer, Ann. d. Chem. u. Pharm. **81**. 375.

3) Boedeker, Ztschr. f. rat. Med. [3] **10**. 162.

4) Gallois, Ztschr. f. analyt. Chem. **4**. 264.

5) Hilger, Ann. d. Chem. u. Pharm. **160**. 333. — Vohl, Ber. d. chem. Gesellsch. **9**. 984. 1876.

C. *Nachweis.* Der Inosit ist erst dann als solcher zu erkennen, wenn er aus dem Harn dargestellt ist; nach Boedeker und Cooper-Lane[1]) lässt sich für diesen Zweck das folgende Verfahren verwenden.

Der Harn wird, nachdem zuvor etwa vorhandenes Albumin abgeschieden ist, mit Bleizuckerlösung, aber ohne Ueberschuss, oder mit Barytwasser vollständig ausgefällt, filtrirt und das erwärmte Filtrat möglichst genau mit soviel Bleiessig versetzt als noch ein Niederschlag entsteht. Zweckmässig ist es, den Harn vor der Fällung auf 1/4 im Wasserbade zu concentriren. Der entstandene nach 12 Stunden gesammelte Bleiessig-Niederschlag wird nach dem Auswaschen in Wasser suspendirt und mit Schwefelwasserstoff zerlegt. Aus dem Filtrat scheidet sich nach einiger Ruhe zuerst noch etwas Harnsäure aus; man filtrirt die Flüssigkeit davon ab, concentrirt sie darauf möglichst weit und versetzt sie kochend mit dem drei- bis vierfachen Volumen Alkohol. Entsteht hierbei ein starker, am Boden des Glases haftender Niederschlag, so giesst man die heisse alkoholische Lösung einfach ab, entsteht aber eine flockige, nicht klebende Fällung, so filtrirt man die heisse Lösung durch einen erhitzten Trichter und lässt erkalten. Haben sich nach 24 Stunden Gruppen von Inositkrystallen abgesetzt, so filtrirt man ab und wäscht die Krystalle mit wenig kaltem Alkohol. In diesem Falle ist es rathsam, um keinen Verlust an Inosit zu erleiden, den auf Zusatz des heissen Alkohols erhaltenen Absatz noch einmal in möglichst wenig kochendem Wasser zu lösen, zum zweiten Mal mit dem drei- bis vierfachen Volumen Alkohol zu fällen etc. Haben sich aber keine Krystalle von Inosit ausgeschieden, so versetzt man das klare kalte alkoholische Filtrat nach und nach mit Aether, bis beim Durchschütteln eine milchige Trübung entsteht und lässt in der Kälte 24 Stunden stehen. Hat man nicht zu wenig Aether angewendet (ein Ueberschuss schadet nicht), so ist aller vorhandener Inosit in perlglänzenden Plättchen ausgeschieden.

Den ausgeschiedenen Inosit erkennt man als solchen an den Reactionen B. 5 a, b u. c. Eine Krystallwasserbestimmung kann das positive Resultat bestätigen.

II. Säuren.

§ 10a. Flüchtige Fettsäuren.

A. *Vorkommen.* Nach den Untersuchungen von v. Jaksch und den bestätigenden von v. Rokitansky[2]) enthält jeder normale Harn geringe Mengen flüchtiger Fettsäuren, und zwar vorwiegend Essigsäure, daneben wenig Ameisensäure und vielleicht auch Buttersäure. Die aus 1,5 *l* normalem Harn gewinnbaren flüchtigen Fettsäuren betragen nach v. Rokitansky im Mittel mehrerer Bestimmungen 0,0545 g. Bei ausschliesslicher Ernährung mit Mehlspeisen sah v. Rokitansky die Tagesmenge Fettsäuren auf 0,406 und 0,417 g steigen; darunter befand sich viel Buttersäure (im Natronsalz 24,2 u. 24,7 % Na). In der Tagesmenge von fiebernden Kranken fand v. Rokitansky 0,09—0,17 (—0,70) g Fettsäure, vorwiegend Essigsäure, und bei Personen mit pleuritischem Exsudat, bei welchen die Diurese durch Ver-

---

1) Cooper-Lane, Ann. d. Chem. und Pharm. **117**. 118. 1861.

2) v. Jaksch, Naturforscherversammlung in Strassburg 1885; Ztschr. f. physiol. Ch. **10**. 536. 1886. — P. v. Rokitansky, Wiener med. Jahrb. [2] **2**. 206. 1887.

abreichung von täglich 5—6 g Kochsalz und Beschränkung der Flüssigkeitsaufnahme gesteigert war, in der Tagesmenge bis 0,505 g mit viel Buttersäure (22,95 % Na im Natronsalz).

Auch der Harn der Thiere enthält Fettsäuren, dieselben wie der Menschenharn. — Bei der ammoniakalischen Gährung des Harnes bilden sich grosse Mengen flüchtiger Fettsäuren (Liebig, C. G. Lehmann, Neubauer, Salkowski); nach Salkowski enthält solcher vergohrener Harn 6—15 mal so viel flüchtige Säuren als frischer. Bei der Bildung dieser Säuren sind die Kohlenhydrate betheiligt.

Die Untersuchungen von von Jaksch unterscheiden sich von denen von Rokitansky's dadurch, dass von Jaksch viel weniger Fettsäuren fand, als v. Rokitansky, in der Tagesmenge normalen Harnes nur 8—9 mg, bei Fieber 0,06—0,10 g; ausserdem gewann v. Jaksch durch Destillation von Harn mit Chromsäuremischung aus der Tagesmenge noch 0,9—1,5 g fettsaures Natron (mit Essigsäure, Spuren Ameisensäure und Buttersäure), von Gesunden wie Fiebernden gleich viel. v. Jaksch giebt ferner an, dass auch bei Krankheiten mit Zerstörung des Lebergewebes viel Fettsäuren (über 0,1 g, dieselben wie sonst) entleert werden, ferner, aber nicht constant, bei Leukämie. Bei Lebersyphilis gewann v. Jaksch ein Silbersalz, das ungefähr so viel Silber enthielt, als das valeriansaure Salz. — Den Unterschied in der Ausbeute an flüchtigen Fettsäuren zwischen seinen Untersuchungen und denen v. Jaksch's führt v. Rokitansky darauf zurück, dass v. Jaksch den Harn mit einer zu geringen Menge Säure destillirt hat.

Schon vor diesen Beobachtungen und später sind wiederholt flüchtige Fettsäuren im Menschenharn aufgefunden worden:

Ameisensäure von Campbell, Buliginsky (in jedem Harn in kleiner Menge), le Nobel (dreimal in sieben diabetischen Harnen durch Ausschütteln des angesäuerten Harns mit Aether). Etwas grössere Mengen scheinen nach Salkowski bei Leukämie vorzukommen. Favre sah Ameisensäure bei einer mit Gasbildung verbundenen Gährung des Harns auftreten. Im normalen Hundeharn finden sich nach Pohl[1]) stets kleine Mengen Ameisensäure.

Essigsäure von Proust, Thénard, Henry (bei acutem Gelenkrheumatismus), Liebig (in grösseren Mengen in Harn, welcher die alkalische Gährung durchgemacht hatte, ebenso), C. G. Lehmann, Neubauer, ferner Salkowski. Im Hundeharn wiesen Hahn und Nencki[2]) Essigsäure nach.

Ameisensäure und Essigsäure zugleich von Thudichum (in der Tagesmenge 0,288 g Essigsäure und 0,05 g Ameisensäure), Jacubasch (bei Leukämie[3]).

Propionsäure giebt Salkowski nach der Zusammensetzung des Salzes an, im normalen Harn gefunden zu haben, ebenso v. Jaksch in einem diabetischen Harn und Favre[4]) bei einer mit Gasbildung einhergehenden Harngährung.

---

1) Campbell, Chem. Gaz. 1853 No. 260; Journ. f. prakt. Ch. **60**. 148. — Buliginsky, Hoppe-Seyler's Untersuchungen 1866. 240. — le Nobel, Centralbl. f. d. med Wissensch. 1886. 641. — Favre, § 1. S. 7. — Pohl, Archiv f. exper. Pathol. **31**. 286. 1893.

2) Proust, Ann. de chim. **36**. 258. 1800. — Thénard, Ann. de chim. **59**. 262. 1806. — O. Henry, Arch. gén. de méd. **20**. 135. 1829. — Liebig, Ann. d. Ch. u. Pharm. **50**. 161. 1844. — C. G. Lehmann, Lehrb. d. physiol. Ch. 1853. **2**. 357. — Neubauer, Ann. d. Ch. u. Pharm. **97**. 134. 1856. — Salkowski, Ztschr. f. physiol. Ch. **13**. 264. 1889. — Hahn u. Nencki, Arch. des sc. biol. **1**. 471. 1892; Archiv f. exper. Pathol. **32**. 199.

3) Thudichum, Journ. of the chem. Soc. [2] **8**. 400; Chem. Centralbl. 1871. 318. — Jacubasch, Virchow's Archiv **43**. 213. 1868.

4) Salkowski, Pflüger's Archiv **2**. 361. — v. Jaksch, Ztschr. f. klin. Med. **11**. 306 u. a. a. O. 552. — Favre a. a. O.

Buttersäure ist von Berzelius aufgefunden worden, sowie, namentlich im Harn Schwangerer, von Lehmann, von Hahn und Nencki spurenweise im Hundeharn. Isobuttersäure traf Favre[1]) in einem unter Gasbildung gährenden Harn an.

Baldriansäure wurde als Bestandtheil des Harns bei Typhus, Variola und acuter Leberatrophie von Frerichs[2]) angegeben; sie könnte durch Fäulniss aus dem gleichzeitig vorhanden gewesenen Leucin entstanden sein.

Feste Fettsäuren vom Schmelzpunkt 49—51^0 fand Mörner[3]) neben Oelsäure in dem aus dialysirtem und mit Essigsäure versetzten Harn durch Schütteln mit Chloroform erhaltenen Eiweissniederschlag, einige Male im normalen Harn und reichlicher in einem Fall von Phosphorvergiftung. Grössere Mengen von Fettsäure traf Mörner auch bei einem Fall von Haematoporphyrinurie im Baryumacetatniederschlag an.

In vergohrenem diabetischen Harn fand Neubauer Essigsäure, Fonberg Buttersäure, Klinger Ameisensäure, Essigsäure, Propionsäure, Buttersäure. Ueberlässt man diabetischen Harn nach Zusatz von gepulverter Kreide bei 35—40^0 der Gährung, so bildet sich nach Scherer viel Buttersäure, während bei niederer Temperatur ohne Zusatz von Kreide oft nur Essigsäure entsteht[4]).

Im Kuhharn wies Buliginsky Essigsäure, im Harn eines täglich mit 1,5 kg Wiesenheu gefütterten Ziegenbocks Wilsing in der Tagesmenge 0,935 bis 2,934 g flüchtige, aus Essigsäure und Buttersäure bestehende Fettsäuren nach. Unter den flüchtigen Fettsäuren des Pferdeharns fand Schotten Ameisensäure, Essigsäure und höhere Fettsäuren (bis mit mindestens 8 Atomen C). Die Damolsäure Städeler's betrachtet Schotten mit Recht als ein Gemenge kohlenstoffreicher Fettsäuren, die Damalursäure als ein Gemenge von Fettsäuren mit Benzoësäure. Im Hundeharn kommt nach Schotten vorzugsweise Essigsäure vor[5]).

Von den als Natronsalze eingeführten Fettsäuren bewirken nach Schotten nur die Essigsäure, in noch höherem Grade die Ameisensäure eine Vermehrung der Fettsäuren des Harns: in Bezug auf die Ameisensäure sind Gréhant und Quinquaud zu demselben Resultat gelangt[6]).

B. *Eigenschaften.* Die flüchtigen Fettsäuren $(CH_2)_nO_2 = (CH_2)_n . H . COOH$ sind einbasisch. Alle hier erwähnten sind bei gewöhnlicher Temperatur flüssig, in Wasser, Alkohol und Aether löslich: ihre Löslichkeit in Wasser wird aber mit der Zunahme an Kohlenstoff geringer; die kohlenstoffreicheren lassen sich durch Zusatz von Chlorcalcium zu ihren Lösungen abscheiden. Ihre Alkalisalze sind leicht löslich in Wasser und in Alkohol, unlöslich in Aether; auch ihre Barytsalze sind in Wasser leicht löslich; man erhält diese Salze durch Sättigen der Säuren mit den Carbonaten oder den (reinen) Hydraten dieser Metalle. Die Silbersalze sind krystallinisch und schwer löslich; sie

---

[1]) Berzelius, Lehrb. d. Ch., 3. Aufl., **9**. 424. 1840. — Lehmann, Lehrb. d. physiol. Ch. 1853. **2**. 376. — Hahn u. Nencki, a. a. O. — Favre, a. a. O.

[2]) Frerichs, Wiener med. Wochenschr. 30. 1854.

[3]) K. A. H. Mörner, Skandin. Archiv **6**. 369. 1896.

[4]) Neubauer, Ann. d. Chem. u. Pharm. **97**. 129. 1856. — Fonberg, das. **63**. 360. 1847. — Klinger, das. **106**. 18. 1858. — Scherer, Verhandl. d. physik.-med. Gesellsch. zu Würzburg **8**. p. XXVIII.

[5]) Buliginsky, a. a. O. — H. Wilsing, Ztschr. f. Biol. **21**. 62[illegible]. 1885. — C. Schotten, Ztschr. f. physiol. Ch. **7**. 375. 1882/83.

[6]) Schotten, a. a. O. 383. — Gréhant u. Quinquaud, Comptes rendus **104**. 437. 1887.

scheiden sich ab, wenn man concentrirte Lösungen der Alkalisalze mit salpetersaurem Silber versetzt. In der Wärme verlieren die fettsauren Salze Säure.

1. Die Ameisensäure CH_2O_2 riecht stechend, siedet bei 99°. — Eisenchlorid bewirkt in den Lösungen neutraler ameisensaurer Salze (wie in der der essigsauren) eine blutrothe Färbung, die auf Zusatz von Mineralsäure verschwindet; beim Kochen giebt die rothe Lösung einen rostfarbenen Niederschlag und entfärbt sich. — Das ameisensaure Silber schwärzt sich schon in der Kälte, beim Erhitzen erfolgt sofort vollständige Reduction. Diese Reduction tritt auch dann noch ein, wenn die Lösung so verdünnt war, dass kein Niederschlag entstand, oder wenn man freie Ameisensäure hatte. — Versetzt man eine Lösung von Ameisensäure oder eines ameisensauren Alkalis mit Quecksilberchlorid und erwärmt auf 60—70°, so scheidet sich Quecksilberchlorür und nach längerem Kochen auch zugleich Metall aus; freie Salzsäure verhindert die Reaction. — Durch alkalisches Permanganat wird die Ameisensäure schnell zu Kohlensäure oxydirt (Baeyer). Auch unterjodigsaures Salz oxydirt die Ameisensäure (Kossler), ammoniakalische Silberlösung (Tollens und Weber[1]), sowie Fehling'sche Lösung aber nicht.

2. Die Essigsäure $C_2H_4O_2$, riecht stechend sauer, siedet bei 118°. Das Natronsalz krystallisirt (mit 3 H_2O) leicht. — Eisenchlorid verhält sich wie gegen die Ameisensäure. — Das essigsaure Silber löst sich in heissem Wasser ohne Reduction und krystallisirt beim Erkalten wieder heraus. — Beim Erwärmen eines essigsauren Salzes mit Alkohol und Schwefelsäure entwickelt sich der characteristische Geruch nach Essigäther; mit Schwefelsäure allein der stechende der Essigsäure. — Das wasserfreie essigsaure Natron enthält 28,05 % Natrium, das Barytsalz 53,8 % Baryum, das Silbersalz 64,67 % Silber. — Die Essigsäure wird durch unterjodigsaures Salz nicht oxydirt (Kossler) und reducirt alkalische Permanganatlösung nicht augenblicklich (Baeyer).

3. Propionsäure $C_3H_6O_2$. Siedet bei 140,7°, riecht eigenthümlich. — Das Silbersalz löst sich in kochendem Wasser unter theilweiser Reduction und krystallisirt beim Erkalten der Lösung in weissen, glänzenden mikroskopischen Nadeldrusen wieder aus. — Der propionsaure Baryt krystallisirt in Oktaëdern oder rechtwinkligen Prismen mit schiefen Endflächen. — Propionsaures Silber enthält 59,67 % Silber, das Barytsalz 48,41 % Baryum, das Natronsalz 23,9 % Natrium. — Die Propionsäure ist oft mit Gemengen von Essigsäure und Ameisensäure mit Buttersäure verwechselt worden.

4. Die (normale oder Gährungs-) Buttersäure $C_4H_8O_2$ riecht in verdünntem Zustand nach ranziger Butter, siedet bei 162,3° und löst sich in allen Verhältnissen im Wasser. Die Verbindungen mit den Alkalien sind zerfliesslich und unkrystallisirbar, dagegen lassen sich die übrigen Salze leicht krystallisirt erhalten. Beim schnellen Verdunsten einer Lösung von buttersaurem Baryt scheidet sich die Verbindung in Form von fettglänzenden Häutchen auf der Oberfläche der Flüssigkeit aus und zeigt unter dem Mikroskop meist nur dichte Haufen nicht genau unterscheidbarer Krystallplättchen. Ueberlässt man aber die Lösung des buttersauren Baryts der freiwilligen Verdunstung, so bilden sich lange abgeplattete, vollkommen durchsichtige Prismen, die meistens in sternförmigen Drusen zusammenliegen. Das Salz löst sich leicht in Wasser; die Lösung bläut geröthetes Lackmuspapier. — Das Calciumsalz ist wasserfrei und löst sich in der Wärme (bis 60°) schwerer als in der Kälte. Das Silbersalz bildet einen weissgelblichen, krystallinischen Niederschlag, der in kaltem Wasser fast unlöslich ist. — Das Barytsalz enthält 44,05 % Ba, das Silbersalz 55,38 % Ag, das Natronsalz 20,91 % Na. — Durch Chromsäure wird die normale Buttersäure zu Kohlensäure und Essigsäure oxydirt.

---

[1]) Baeyer, Ann. d. Ch. **245**. 148. — A. Kossler, Ztschr. f. physiol. Ch. **17**. 134. 1892. — Tollens u. Weber, Ztschr. f. Ch. [2] **4**. 443. 1868.

5. Isobuttersäure siedet bei 154° und löst sich bei 20° nur in 5 Thln. Wasser. Ihre Salze sind leichter löslich als die der normalen Buttersäure. Das Calciumsalz krystallisirt in niederer Temperatur mit 5 H_2O, in höherer (80°) mit 1 H_2O und löst sich in der Wärme leichter als in der Kälte; das Silbersalz krystallisirt aus heissem Wasser wasserfrei in Tafeln. Bei der Oxydation der Säure mit Chromsäure entsteht neben Kohlensäure und Essigsäure auch etwas Aceton.

6. (Iso-) Valeriansäure (Baldriansäure) $C_5H_{10}O_2$. Von durchdringendem Geruch, siedet bei 176,3°, löst sich leicht in Alkohol und in Aether, sowie in 23,6 Theilen Wasser. Die baldriansauren Salze krystallisiren leicht. Baldriansaurer Baryt krystallisirt in durchsichtigen cholesterinähnlichen Plättchen, die leicht in Wasser, aber schwer in Alkohol löslich sind. — Das Silbersalz krystallisirt in feinen silberglänzenden schwer löslichen Plättchen. — Das Silbersalz enthält 51,67 % Ag, das Barytsalz 40,41 % Ba, das Natronsalz 18.65 % Na.

C. *Nachweis.* Zur Abscheidung der flüchtigen Fettsäuren destillirt man möglichst grosse Mengen Harn nach Zusatz von Phosphor- oder Schwefelsäure, am Besten unter Einleiten von Wasserdampf. Die zugefügte Säure verwandelt zugleich den Harnstoff in kohlensaures Ammon und wird durch dieses gebunden. Will man keine Fettsäure zurücklassen, so muss man den Harn, nach v. Rokitansky, mit soviel Säure versetzen, dass alles möglicher Weise aus dem Harnstoff entstehende Ammoniak gesättigt werden kann und noch ein Ueberschuss an freier Säure vorhanden ist; dazu sind für 100 cc Harn 10 cc Phosphorsäure von 1,275 Dichte oder 8.5 g englische Schwefelsäure erforderlich; nach v. Udránszky[1]) genügen dazu auch 10 Volumproc. Salzsäure. Die fixen Mineralsäuren machen aus den Chloriden des Harns Salzsäure frei. Man destillirt so lang, als das Destillat noch sauer reagirt, neutralisirt das Destillat mit kohlensaurem Natron, verdampft zur Trockne und zieht den Salzrückstand wiederholt in der Wärme mit absolutem Alkohol aus, wobei das meiste, beim Neutralisiren entstandene Kochsalz zurückbleibt und fettsaures Natron, ferner stets benzoësaures Natron und Spuren Parakresol in Lösung gehen. Die Benzoësäure lässt sich bis auf Spuren entfernen, wenn man die auf 0° abgekühlte concentrirte wässrige Lösung des Salzes mit Schwefelsäure versetzt, den Niederschlag abfiltrirt, mit Eiswasser wäscht, die Flüssigkeit in der Kälte stehen lässt und, wenn nöthig, abermals filtrirt. Es wird dann bei gewöhnlicher Temperatur wieder mit kohlensaurem Natron neutralisirt und die Flüssigkeit zur Entfernung des Parakresols mit Aether ausgeschüttelt. Die Salzlösung wird darauf durch Erwärmen vom Aether befreit und abermals unter Zusatz von Säure destillirt.

Das Destillat prüft man zunächst mit salpetersaurem Silber oder Quecksilberchlorid auf Ameisensäure. Ist diese vorhanden, so zerstört man dieselbe durch Kochen mit Quecksilberoxyd, sättigt die Flüssigkeit mit kohlensaurem Natron, filtrirt, verdunstet und lässt zum Krystallisiren eine Zeit lang stehen. Ist Essigsäure vorhanden, so krystallisirt bald essigsaures Natron aus, das leicht als solches zu erkennen ist. Hat sich das essigsaure Natron abgeschieden, so säuert man die Mutterlauge wieder mit Phosphorsäure an und unterwirft sie aufs Neue der Destillation. Das jetzt erhaltene Destillat versetzt man mit Barytwasser im Ueberschuss, leitet Kohlensäure bis zur neutralen Reaction ein, erhitzt zum Kochen, filtrirt, und verdunstet zur Krystallisation bis auf ein kleines Volumen. Am löslichsten ist von den in Frage kommenden Barytsalzen der propionsaure Baryt, am Wenigsten löst sich das buttersaure Salz. Die Analyse des erhaltenen Barytsalzes wird über die Natur der vorhandenen Säure, sobald nur eines der höheren Glieder vorhanden ist, Auskunft geben, sind aber mehrere gleichzeitig zugegen, so muss man durch fractionirte Krystallisation mehrere Barytsalze darstellen, und den Baryumgehalt der einzelnen bestimmen, da zur Reindarstellung der verschiedenen Säuren das vorhandene Material wohl niemals ausreichen dürfte. Selbstverständlich kann man für die Analyse auch die Silbersalze darstellen, indem man die Lösung der Natronsalze

[1]) v. Udránszky, Ztschr. f. physiol Ch. **11**. 551.

oder die Mutterlauge vom essigsauren Natron, wenn die Menge reicht, fractionirt mit essigsaurem Silber fällt.

v. Jaksch reinigte das Natronsalz dadurch, dass er die durch Abdampfen concentrirte alkoholische Lösung mit Aether fällte und den Niederschlag mit Aether wusch.

Vorschriften zur quantitativen Bestimmung der Ameisensäure mittelst Permanganat haben Lieben, sowie Jones, mittelst Quecksilberchlorid Scala, Pohl, Lieben[1]) gegeben.

§ 10b. Fett.

A. *Vorkommen.* Fett kommt im Harn entweder in Zellen (Lymphzellen, Epithelien) oder in freiem Zustand vor. Bei Chylurie ist der Harn so reich an Fett, dass derselbe milchweiss erscheint. Aus Fetten bestehende Harnsteine (Urostealithe) wurden einige Mal beobachtet. Horbaczewski[2]) hat fünf erbsen- bis bohnengrosse derartige Concremente analysirt, die zusammen 0,5 g wogen; sie enthielten 51,5% feste Fettsäuren und 31,5% Fett.

B. *Eigenschaften.* 1. Bei Chylurie tritt das Fett in Form einer milchähnlichen Emulsion auf, in welcher die Fetttröpfchen nur schwer zusammenfliessen und nur schwer erstarren; in andern Fällen (Fettentartung der Nieren) hat man das Fett sich in grossen flachen Tropfen (Fettaugen) auf der Oberfläche des Harns ansammeln sehen. Das flüssige Fett bei Chylurie erscheint unter dem Mikroskop in kreisrunden Tropfen mit glatten Contouren; im auffallenden Licht sind die Tropfen weiss und silberglänzend. Erstarren die Tropfen, so nehmen sie ein mattes Ansehen an und ihre Ränder werden rauh und höckrig.

2. Das Fett löst sich leicht in Aether, Petroläther, Benzol, schwerer in Alkohol, nicht in Wasser.

3. Bei starkem Erhitzen entwickelt das Fett den unangenehmen Geruch des Akroleïns.

C. *Nachweis.* Bei der Chylurie genügt die mikroskopische Untersuchung des Harns. Man kann auch den Harn mit (alkoholfreiem) Aether schütteln; der Harn klärt sich dabei und der abgehobene Aether hinterlässt das Fett. Kleine Mengen von Fett lassen sich in der Art nachweisen, dass man den Harn unter Zusatz eines unlöslichen Pulvers (gebrannter Gyps) möglichst zur Trockne verdunstet, den Rückstand pulvert und in einem Kölbchen mit Aether auskocht oder das Pulver in einem Extractionsapparat mit Aether auszieht. Die ätherische Lösung verdunstet man bei gelinder Wärme in einem Kölbchen oder in einem hohen Bechergläschen, wobei das Fett zurückbleibt. Man erkennt dieses leicht als solches daran, dass es Papier dauernd durchscheinend macht und der Fettfleck nur schwer von Wasser benetzt wird, ferner an dem Geruch nach Akroleïn beim Erhitzen auf dem Platinblech.

§ 11. Milchsäure.



$C_3H_6O_3$.



$CH_3 - CH.OH - COOH$.

Fleischmilchsäure, Rechts-Milchsäure, Paramilchsäure.

A. *Vorkommen.* Milchsäure ist mit Sicherheit (durch Analyse des Zinksalzes) nachgewiesen worden bei hochgradigem Sauerstoffmangel, bei Störung oder gänzlicher Aufhebung der Leberthätigkeit, bei starker

---

1) A. Lieben, Monatshefte f. Ch. 14. 746. 1893. — C. Jones, Amer. chem. Journal 7. 17; Ztschr. f. anal. Ch. 35. 90. 1896. — A. Scala, Gaz. chim. ital. 20. 393; Jahresb. f. Thierch. 1890. 50. — J. Pohl, Archiv f. exper. Pathol. 31. 285. 1893.

2) J. Horbaczewski, Ztschr. f. physiol. Ch. 18. 335. 1893.

Muskelanstrengung, oder bei Beeinträchtigung der Ernährung des Muskelgewebes (Trichinose) und in Folge der Wirkung einiger Gifte.

Wie bereits Liebig nachwies, ist im normalen Harn keine Milchsäure enthalten; bei der Untersuchung von 41, 42 und 56 Liter Harn ruhender Menschen fand sie Heuss[1]) nicht auf.

Araki stellte Fleischmilchsäure aus dem Harn von Thieren dar, welche in einem abgeschlossenen Raume athmeten, oder solchen, die mit Kohlenoxyd, Curare oder Strychnin vergiftet worden waren, Zillessen nach der Vergiftung mit Blausäure. Beim Athmen im geschlossenen Raum enthält der Harn dann erst Milchsäure, wenn die Thiere dem Tode nahe sind (Hoppe-Seyler). Nach v. Terray erscheint Milchsäure im Harn, wenn die Thiere Luft mit weniger als 10,5 % Sauerstoff athmen. — Dementsprechend wurde Milchsäure gefunden beim Menschen nach Vergiftung mit Kohlenoxyd von Münzer und Palma, bei verschiedenen Krankheiten in dem kurz vor dem Tode entleerten Harn von Irisawa 3 mal unter 7 Fällen, und dieselbe Angabe machen für je einen Fall Weintraud sowie v. Noorden. Im Harn von Epileptikern kurz nach dem Anfall hat Araki Milchsäure nachgewiesen, bei hochgradiger Anämie F. Hoppe-Seyler. Auch sah sie Araki nach starken Abkühlungen auftreten. — Dagegen hat sie Schütz[2]) bei Verwendung eines verlässlichen Verfahrens vermisst in einem Fall von hochgradiger Anämie nach Blutverlust und in einem Fall von perniciöser Anämie.

Nach gänzlicher Exstirpation der Leber scheiden Gänse nach Minkowski, Frösche nach Nebelthau Milchsäure im Harn aus. Die Milchsäure bleibt dagegen nach Minkowski aus, wenn Enten nur die Pfortader oder alle zuführenden Gefässe der Leber mit Ausnahme des Hauptstammes der Pfortader unterbunden oder nur ein Theil der Leber exstirpirt worden war. Im Harn von Hunden mit Eck'scher Pfortader-Lebervenenfistel fanden Hahn und Nencki niemals Milchsäure. Dagegen hat sie Zillessen im Harn von Hunden und Kaninchen nach Unterbindung der Leberarterien nachgewiesen. — Beim Menschen haben sie Schultzen und Riess (überhaupt zum ersten Mal im Harn) bei acuter Phosphorvergiftung und acuter gelber Leberatrophie aufgefunden, Rosenheim und Munk auch im Harn eines an acuter Leberatrophie leidenden Kindes. Auch bei Thieren ist sie nach Vergiftung mit Phosphor (oder Arsen) von Araki beobachtet worden. Bei andersartigen Lebererkrankungen wurde sie zumeist vermisst (Stadelmann, Weintraud, Schütz[3]).

Nach angestrengter Muskelthätigkeit von längerer Dauer haben Spiro, sowie Colasanti und Moscatelli Milchsäure im Harn nachgewiesen; Vicarelli

---

1) Liebig, Ann. d. Ch. u. Pharm. **50**. 166. 1844. — E. Heuss, Arch. f. exper. Pathol. **26**. 150. 1890.

2) T. Araki, Ztschr. f. physiol. Ch. **15**. 335. 1891. — H. Zillessen, daselbst **15**. 398. — F. Hoppe-Seyler, Briefliche Mittheilung. — P. v. Terray, Pflüger's Archiv **65**. 393. 1896. — Münzer u. Palma, Prager Zeitschr. f. Heilk. **15**. 185. 1894. — T. Irisawa, Zeitschr. f. physiol. Ch. **17**. 340. 1892. — W. Weintraud, Archiv f. exper. Pathol. **31**. 39. 1893. — v. Noorden, Lehrbuch der Pathologie des Stoffwechsels. 1893. 337. — Araki, a. a. O. 363. — F. Hoppe-Seyler, Therap. Monatshefte, April 1891. — Araki, a. a. O. **16**. 453. 1892. — E. Schütz, Zeitschr. f. physiol. Ch. **19**. 482. 1894.

3) O. Minkowski, Arch. f. exper. Pathol. **21**. 67. 1886. — E. Nebelthau, Ztschr. f. Biol. **25**. 123. 1889. — Minkowski, a. a. O. **31**. 214. 1893. — M. Hahn u. M. Nencki, Arch. des sc. biol. **1**. 449. 1892; Archiv f. exper. Pathol. **32**. 186. 1893. — Zillessen, a. a. O. 393. — O. Schultzen, Ztschr. f. Chem. [2] **3**. 138. 1867; Chem. Centralbl. 1867. 687. — Schultzen u. Riess, Ann. des Charité-Krankenhauses **15**. 1; Chem. Centralbl. 1869. 681. — Th. Rosenheim, Ztschr. f. klin. Med. **15**. 441. 1888. — Araki, a. a. O. **17**. 311. 1892. — Stadelmann, Archiv f. klin. Med. **33**. 526. 1883. — Weintraud, a. a. O. — Schütz, a. a. O.

giebt an, sie nach langen heftigen Wehen im Harn gefunden zu haben. Bei Trichinose fanden sie Simon und Wibel, nach Unterbindung der Arteriae iiacae Zillessen[1]).

Araki[2]) sah sie ferner auftreten nach Vergiftung mit Morphin, Cocaïn, Veratrin, Amylnitrit.

Im Harn bei Osteomalacie wurde sie von Schmuziger und von Heuss, im Harn bei Leukämie von Salkowski, von Nencki u. Sieber u. von Schütz vermisst, von Schütz ferner bei Zuständen, welche mit Peptonurie verbunden waren. — Stadelmann fand in dem Harn eines Diabetikers, welcher täglich 4,5 g Gährungsmilchsäure erhielt, nicht unbedeutende Mengen einer Milchsäure. Nencki und Sieber konnten dagegen im Harn einer Frau, welche innerhalb 4 Tagen 80 g milchsaures Natron genommen hatte, keine Milchsäure nachweisen. Spritzt man Kaninchen während der Kohlenoxydvergiftung gährungsmilchsaures Natron unter die Haut, so enthält der Harn nach F. Hoppe-Seyler u. Araki[3]) neben Rechtsmilchsäure auch inactive.

B. *Eigenschaften.* 1. Die Fleischmilchsäure bildet eine farb- und geruchlose, syrupöse Flüssigkeit, löst sich in Wasser, Alkohol und Aether, ist für sich nicht flüchtig, verflüchtigt sich aber in geringer Menge mit Wasserdämpfen (auch aus dem Zinksalz) (Wislicenus). Die freie Säure dreht schwach rechts und ihre Salze drehen schwach links. (Wislicenns).

Die Drehung der Fleischmilchsäure und ihrer Salze ist gering. Die spec. Drehung der freien Säure wächst mit der Concentration der Lösung; nach Hoppe-Seyler und Araki betrug $[\alpha]_D$ bei 39,8 g in 100 cc 3,5⁰, bei 11,2 g in 100 cc 1,7⁰. Die Lösungen der Salze drehen jedoch nach Hoppe-Seyler und Araki in verdünnter Lösung stärker als in concentrirter; für das Kalisalz beträgt $[\alpha]_D$ nach Hoppe-Seyler und Araki bei 6,25 g in 100 cc — 3,85⁰, bei 4,14 g — 5,06⁰; für das Zinksalz bei 8,3—9,1 g in 100 cc — 6,58⁰, bei 4,18 g — 7,55⁰; für das Lithiumsalz bei 23,97 g in 100 cc — 9,0⁰, bei 5,0 — 11,6 g — 11,67⁰. Nach Purdie und Walker[4]) macht nur das Silbersalz von dieser auch von ihnen aufgefundenen Regel eine Ausnahme; bei diesem nimmt die spec. Drehung mit der Verdünnung etwas ab. Nach Denselben besitzen die Salze der Alkalimetalle, sowie die des Silbers, Baryums und Strontiums, ein gemeinsames Maximum der Drehung von — 14,5⁰.

2. Die Milchsäure ist einbasisch. Ihre Salze sind fast alle löslich.

a. Das Lithionsalz krystallisirt sehr schön und wasserfrei. Es scheidet sich aus heissem Wasser unter fortwährendem Spritzeln aus; bei langsamem Erkalten bildet es lange und breite, anscheinend rechtwinklige aber nicht dicke Tafeln (Hoppe-Seyler und Araki[4]).

---

1) Spiro, Zeitschr. f. physiol. Ch. **1**. 117. 1877. — G. Colasanti und R. Moscatelli, Gaz. chim **17**. 548; Chem. Centralbl. 1888. 758. — Vicarelli, Arch. di Chim. e Farmac. 1894; Jahresb. f. Thierch. 1894. 690. — Th. Simon und F. Wibel, Ber. d. chem. Gesellsch. **4**. 139. 1871. — Zillessen, a. a. O. 392.

2) Araki, a. a. O. **15**. 546. u. **16**. 453.

3) Schmuziger, Centralbl. f. d. med. Wiss. 1875. 946. — E. Heuss, Arch. f. exper. Pathol. **26**. 147. 1889. — Salkowski, Virchow's Archiv **52**. 62. 1871. — Nencki u. Sieber, Journ. f. prakt. Ch. [2] **26**. 43. 1882. — Schütz, a. a. O. — Stadelmann, Archiv f. exper. Pathol. **17**. 442. 1883. — Nencki u. Sieber, Journ. f. prakt. Ch. [2] **26**. 35. 1882. — Araki, a. a. O. **19**. 455. — F. Hoppe-Seyler u. Araki Ztschr. f. physiol. Ch. **20**. 374. 1895.

4) F. Hoppe-Seyler u. Araki, a. a. O. 365. — T. Purdie und J. W. Walker, Journ. of the chem. Soc. **67**. 616; Chem. News, **71**. 278; Chem. Centralbl. 1895. **2**. 157.

b. Das Kalksalz, $(C_3H_5O_3)_2Ca + 4 H_2O$, bildet Doppelbüschel von ausserordentlich feinen Nadeln, löst sich in 12,4 Theilen kaltem Wasser und in Alkohol.

c. Das Zinksalz $(C_3H_5O_3)_2Zn + 2 H_2O$, krystallisirt in Drusen kleiner mikroskopischer Prismen oder Sphenoiden und löst sich in 17,5 Theilen Wasser; es löst sich auch in 964 Theilen siedendem absoluten Alkohol. In mässig verdünntem Alkohol löst sich das Salz leicht und scheidet sich auf Zusatz des gleichen Volumens Aether als Gallert ab, die sich unter der Flüssigkeit allmählich in Drusen kleiner Krystalle verwandelt (Huppert). Das Salz verliert über Schwefelsäure nach Schwiening in 21—24 Tagen nicht an Gewicht, nach Werther 1 Mol. H_2O. Bei 100—110° giebt es das Krystallwasser nur langsam ab (Schwiening[1]).

d. Das Bleisalz. Beim Kochen des Zinksalzes mit Bleihydrat entsteht ein Bleisalz, welches sich beim Erkalten des Filtrats als harte Krystallkruste an der Wand des Gefässes absetzt (Marcet, Huppert[2]).

e. Das Kupfersalz, $(C_3H_5O_3)_2Cu + 3 H_2O$ (Hilger), bildet kleine harte, aus himmelblauen Nadeln bestehende Warzen und löst sich in 2 Theilen kaltem Wasser.

f. Durch Zinnoxydulsalz wird Gährnngs-Milchsäure aus ihren Salzen bei Abwesenheit freier Säure als in Wasser unlösliches krystallinisches Pulver gefällt, (Engelhardt und Madrell, Brüning[3]); auch alkalische Zinnoxydullösung schlägt die Milchsäure nieder. Dasselbe gilt von der Fleischmilchsäure.

3. Zersetzungen.

Im Gegensatz zur Gährungsmilchsäure giebt die Fleischmilchsäure mit Jodkalium und Alkalihydrat kein Jodoform (Lieben, Huppert.) — Alkalische Permanganatlösung wird von (Gährungs-)Milchsäure nur sehr langsam reducirt. (Baeyer). — Beim Erhitzen mit verdünnter Schwefelsäure auf 130° liefert sie Aldehyd und Ameisensäure (Erlenmeyer[4]), beim Kochen mit Schwefelsäure und Braunstein oder Bleisuperoxyd Aldehyd und Kohlensäure (Liebig).

4. Farbenreaction. Nach Uffelmann wird eine 2—4 proc., mit einigen Tropfen Eisenchlorid blauviolette Phenollösung durch Milchsäure gelb. Essigsäure und Buttersäure geben eine ähnliche Färbung, aber Salzsäure macht die Mischung farblos. Phosphate, Alkohol, Zucker können dieselbe Reaction geben (Fr. Müller, Ewald, v. Jaksch[5]).

C. *Nachweis.* Für den Nachweis der Milchsäure genügt weder die Farbenreaction von Uffelmann, noch die Krystallform des milchsauren Zinks. Sicher lässt sich der Nachweis nur führen durch Analyse eines ihrer Salze, wozu sich wegen seiner Schwerlöslichkeit das Zinksalz am Besten eignet. Dieses enthält 2 Mol. H_2O (14,58%) Krystallwasser und unterscheidet sich dadurch vom gährungsmilchsauren Zink, mit 3 Mol. H_2O (18,16%); das wasserfreie Salz enthält 33,42% ZnO oder 26,84% Zn (Zn = 65,3, O = 16). Nach der von v. Ritter beschriebenen Methode lässt sich die Zinkbestimmung leicht ausführen. Das

1) H. Schwiening, Virchow's Archiv **136**. 444. 1894. — Werther, Pflüger's Archiv **46**. 70 u. 76.

2) W. Marcet, Journ. of the chem. Soc. [2.] **2**. 405; Chem. Centralbl. 1865. 380.

3) Engelhardt u. Madrell, Ann. d. Ch. und Pharm. **63**. 97. 1847. — Brüning, daselbst **104**. 192. 1857.

4) Lieben, Ann. d. Ch. u. Pharm. Suppl. **7**. 228. — Baeyer, Ann. d. Ch. **245**. 149. — Erlenmeyer, Ztschr. f. Ch. 1868. 343.

5) Uffelmann, Ztschr. f. klin. Med. **8**. 392; Ztschr. f. anal. Ch. **27**. 543. — v. Jaksch, Klinische Diagnostik, 4. Aufl. 1896. 188.

beste mir bekannt gewordene Verfahren zur Darstellung von Zinklactat aus Harn in analysenreiner Form ist folgendes.

Dem Harn wird nach Zusatz einer nicht flüchtigen Mineralsäure in reichlicher Menge die Milchsäure durch Aether entzogen. Der Aether hinterlässt die Milchsäure, wenn sie vorhanden war, beim Verdunsten mit anderen, von ihm aufgenommenen Substanzen (Phenolen, Hippursäure, Harnstoff) als meist dunkel gefärbten Syrup. Von dem grössten Theil der fremden Substanzen, und vor Allem von den gefärbten, lässt sich die rohe Milchsäure, nach Salkowski[1]) am Besten durch Kochen mit Bleihydrat befreien. Man filtrirt heiss, um einen Verlust an Milchsäure als Bleisalz zu vermeiden oder wenigstens einzuschränken und behandelt das Filtrat sofort mit Schwefelwasserstoff, filtrirt das Schwefelblei ab, kocht erst das Filtrat für sich, um den gelösten Schwefelwasserstoff, und darauf, um die Milchsäure in ihr Zinksalz überzuführen, mit kohlensaurem Zink. Die Lösung wird dann zur Krystallisation verdunstet und die ausgeschiedene Krystallmasse mit wenig absolutem Alkohol gewaschen. Man lässt die Krystalle an einem vor Staub geschützten Ort lufttrocken werden, bestimmt in einem Porzellantiegel das Krystallwasser bei 100 bis 110^0 und nimmt dann die Zinkbestimmung nach v. Ritter vor.

Man kann den Harn, abgesehen vom Säurezusatz, ohne weitere Vorbereitung zur Extraction mit Aether verwenden; es ist nicht nöthig, ihn vorher einzudampfen, oder den Alkoholauszug des Abdampfungsrückstandes zu verarbeiten oder den Harn mit Bleiacetat zu fällen. Zum Ansäuern lässt sich ebenso gut verdünnte Schwefelsäure wie Phosphorsäure gebrauchen; der Phosphorsäure hat Werther[2]) den Vorzug gegeben, weil dabei keine Salzsäure in den Aether übergehe und so die Bildung von Chlorzink vermieden werde; beim Kochen mit dem Bleihydrat wird aber die Salzsäure wieder entfernt. Wichtig jedoch ist ein reichlicher Zusatz von Säure.

Schüttelt man den angesäuerten Harn mit Aether, wozu ein dem Harn gleiches Volumen zu verwenden ist, so bildet sich eine Emulsion, von welcher sich der Aether nur schwer sondert; Zusatz mässiger Mengen Alkohol hilft manchmal die Emulsion beseitigen. Man darf den Aether aber nur dann abheben, wenn er vollkommen klar geworden ist. Die Extraction ist einige Male zu wiederholen und der Aether ist dann abzudestilliren. Mit einem geringeren Aufwand an Zeit gelangt man bequemer zu demselben Ziel, wenn man sich zur Extraction des in Fig. 3 (Seite 185) abgebildeten Apparats bedient, dessen in verschiedener Form angewendetes Princip von Schwarz[3]) angegeben worden ist. In den Kolben mit dem seitlichen Ansatz (Fractionirkolben) wird die Flüssigkeit gefüllt, welche extrahirt werden soll; sie darf nicht weit in den Kolbenhals hineinreichen. Das tiefer stehende Kölbchen dient zur Aufnahme des Aethers, mit welchem extrahirt werden soll; seine Menge ist so zu bemessen, dass nach dem Ausfüllen des Raumes im Extractionskolben noch ziemlich viel Aether im zweiten Kölbchen vorhanden ist. Der Aether wird auf einem Wasserbad im Sieden erhalten; damit dieses gleichmässig vor sich geht, hat man in den Aether einige erbsgrosse Stücke Bimsstein gebracht. Der Aetherdampf gelangt durch das obere Verbindungsrohr in den Kühler und wird dort condensirt. Der Aether fliesst dann in den Extractionskolben, durchstreicht die Flüssigkeit, sammelt sich auf ihrer Oberfläche an und fliesst, mit der gelösten Substanz, durch das untere quere Rohr in den Aetherkolben zurück.

---

1) Salkowski, die Lehre vom Harn 1882. 126.
2) Werther, Pflüger's Archiv **46**. 68. 1889.
3) H. Schwarz, Zeitschr. f. anal. Ch. **23**. 368. 1884.

Es lassen sich mit demselben Apparat auch grosse Mengen Harn extrahiren. Man hat dann nur ein Rohr mit einem seitlichen Ansatz, von der Form wie am Extractionskolben, mittelst eines durchbohrten Korks luftdicht in die den Harn enthaltende Flasche einzufügen.

Der Apparat bedarf, wenn er einmal im Gange ist, keiner grossen Beaufsichtigung. Bei ungefähr 20stündiger Extraction wird nach Versuchen in meinem

Fig. 3.



Laboratorium von 0,5—1,0 g milchsaurem Zink, welches 0,5 Liter Harn zugesetzt ist, ungefähr die Hälfte analysenrein wieder gewonnen. Das Verfahren ist also zum Auffinden selbst kleiner Mengen Milchsäure geeignet.

Zur Analyse des Zinksalzes wird das getrocknete und gewogene Salz nach v. Ritter[1]) in einem Porzellantiegel mit concentrirter Salpetersäure über-

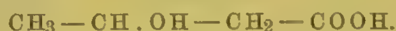
[1]) G. v. Ritter, Zeitschr. f. analyt. Ch. **35**. 311. 1896.

gossen, die Salpetersäure in gelinder Wärme verdunstet, der trockene Rückstand erst schwach erhitzt und dann geglüht; er bräunt sich und verglimmt zu Zinkoxyd. Bei dem Abrauchen der Salpetersäure und beim anfänglichen Erhitzen verspritzt leicht Substanz; dieser Uebelstand lässt sich leicht vermeiden, wenn man die überschüssige Salpetersäure in einer Lieben'schen Muffel oder wohl auch über einem Schlangenbrenner verdunstet. Es genügt schon 0,1 g Lactat für die Analyse, sie erfordert aber dann grosse Sorgfalt. Ein Fehler in der Bestimmung des Zinkoxyds von Zehntelmilligramm macht in der Analyse Fehler von Zehntelprocenten.

§ 12. Optisch active β-Oxybuttersäure.



$C_4H_8O_3$.



$CH_3 — CH . OH — CH_2 — COOH$.

Nachdem Stadelmann ein Zersetzungsprodukt derselben, die α-Crotonsäure, aus diabetischem Harn erhalten hatte, wiesen gleichzeitig E. Külz und Minkowski[1]) in solchem Harn die β-Oxybuttersäure selbst nach.

A. *Vorkommen.* Die β-Oxybuttersäure ist gefunden worden in schweren Fällen von Zuckerharnruhr (E. Külz[1]) u. A.), auch vorübergehend beim Uebergang zur animalischen Kost (Wolpe), bei Scharlach und Masern (E. Külz), aber nicht bei anderen Fieberkranken (Minkowski), in einem Fall von Skorbut (Minkowski), bei abstinirenden Geisteskranken (E. Külz), im Coma bei Krebskranken (Klemperer, Lorenz), in je einem Fall von Hysterie und Urämie (Lorenz). Die β-Oxybuttersäure wird stets von Acetessigsäure begleitet. Nach Verabreichung reichlicher Mengen von β-Oxybuttersäure erscheint im Harn nach Minkowski und nach Araki neben unzersetzter Oxybuttersäure Acetessigsäure und Aceton. Der Gehalt des Harns an Ammoniak, an Acetessigsäure oder Aceton und bei Diabetes an Zucker stehen nach Wolpe[2]) mit seinem Gehalt an β-Oxybuttersäure in keinem quantitativen Zusammenhang.

Auch bei Pankreasdiabetes kommt die Säure nach v. Mering und Minkowski im Harn zeitweilig vor, Sandmeyer[3]) dagegen gelang der Nachweis niemals.

Nach den Beobachtungen von Külz berechnet sich die in der Tagesmenge Harn bei Diabetikern vorkommende Menge Oxybuttersäure aus der beobachteten Linksdrehung, wenn man der Rechnung die spec. Drehung des Natronsalzes mit -15^0 zu Grunde legt, in 11 Fällen im Mittel zu 31 g (19—50), in drei anderen Fällen zu 67, 100 und 223 g. Wolpe bestimmte dagegen in der Tagesmenge diabetischen Harns, gleichfalls durch die Polarisation, nur bis 15—16 g. Wein-

---

1) Stadelmann, a. a. O. 438. 1883. — E. Külz, Ztschr. f. Biologie **20**. 165. 1884. — O. Minkowski, Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1884. 242; Archiv f. exper. Pathol. **18**. 35 u. 147. 1884.

2) H. Wolpe, Archiv f. exper. Pathol. **21**. 138. 1886. — E. Külz, Ztschr. f. Biol. **23**. 329. 1887. — Minkowski, Archiv f. exper. Pathol. **19**. 224. 1885. — G. Klemperer, Berliner klin. Wochenschr. 1889. 869. — H. Lorenz, Ztschr. f. klin. Med. **19**. 73, 53 u. 59. 1891. — Minkowski, a. a. O. **31**. 182. 1893. — Araki, Ztschr. f. physiol. Ch. **18**. 6. 1893.

3) v. Mering u. Minkowski, Arch. f. exper. Pathol. **26**. 378. 1890. — W. Sandmeyer, Ztschr. f. Biol. **29**. 94. 1892; **31**. 40. 1894.

traud 11—15 g. Der von Weintraud[1]) beobachtete Kranke bot die Eigenthümlichkeit dar, dass sein Harn unter strenger Diät Jahr und Tag zuckerfrei war, aber Oxybuttersäure (Acetessigsäure und Aceton) enthielt.

Oefter nimmt mit der Zunahme der β-Oxybuttersäure das Aceton (die Acetessigsäure) nach Wolpe ab; der Harn kann Acetessigsäure ohne die Oxysäure enthalten. Die Fieberfälle, in welchen Minkowski die Säure vergeblich suchte, wiesen auch keine nennenswerthen Mengen Aceton auf. — Im Harn von Kaninchen, deren Temperatur künstlich gesteigert wurde, fand E. Külz unter 6 Versuchen nur einmal β-Oxybuttersäure. Im Harn hungernder Kaninchen oder Hunde fand weder Külz noch Sandmeyer Oxybuttersäure. Auch trat sie nach Hahn und Nencki[2]) niemals im Harn von Hunden mit Eck'scher Fistel auf.

B. *Eigenschaften.* Die Säure ist namentlich von E. Külz und von Minkowski[3]) untersucht worden.

1. Die β-Oxybuttersäure bildet einen geruch- und farblosen, durchsichtigen, mit Wasserdämpfen nicht flüchtigen Syrup. Sie dreht die Ebene des polarisirten Lichtes nach links.

Nach Minkowski ist $[\alpha]_D = -20{,}6^0$ in 9,8 proc. Lösung, nach E. Külz $= -23{,}4^0$ in 1—5,5 proc. Lösung; innerhalb dieser Grenzen erscheint nach Külz die spec. Drehung von der Concentration der Lösung unabhängig.

2. Sie ist einbasisch. Ihre Salze sind leicht löslich in Wasser; sie lösen sich gleichfalls, wenn auch schwer, in absolutem Alkohol und werden aus dieser Lösung durch Aether gefällt. Sie drehen wie die Säure links. Die Alkalisalze sind zerfliesslich, die Salze der schweren Metalle weniger hygroskopisch. Eisenchlorid färbt die Salze nicht roth.

a. Das Natronsalz, $C_4H_7NaO_3$, krystallisirt im trockenen Raum in feinen strahlig gruppirten Nadeln oder Krusten aus platten zugespitzten Prismen, nach Stadelmann auch in Hexaëdern. Zerfliesslich. $[\alpha]_D = -15{,}0^0$ in 32,1 proc. Lösung (Minkowski), $-13{,}93^0$ in 20,9 proc. Lösung (Deichmüller, Szymanski und Tollens[4]).

b. Das Kalisalz bildet Nadeln (E. Külz).

c. Das Ammonsalz dreht links, $[\alpha)_D = -16{,}3^0$ in 2,8—4,6 proc. Lösung (E. Külz).

d. Das Magnesia- und das Barytsalz sind nur amorph erhalten worden. Das Barytsalz ist zerfliesslich.

e. Das Silbersalz $C_4H_7AgO_3$ (vacuumtrocken), bildet stern- und garbenförmig angeordnete, sehr feine Nadeln; bei schnellem Erwärmen auf 100^0 schmilzt es, bei langsamem nicht. $[\alpha]_D = -10{,}1^0$ in 4 procent. Lösung (Minkowski), $= -8{,}64$ in 1,4 proc. Lösung (E. Külz).

f. Das Zinksalz, $(C_4H_7O_3)_2Zn$, aus dem Barytsalz durch schwefelsaures Zink, krystallisirt in langen, meist in Büscheln zusammen liegenden Nadeln, löst sich in absolutem Alkohol sehr schwer, besser in verdünntem.

---

[1]) E. Külz, Ztschr. f. Bilol. **20**. 165. — Wolpe, a. a. O. — Weintraud Arch. f. exper. Pathol. **34**. 174. 1894.

[2]) E. Külz, Ztschr. f. Biol. **23**. 329. — Sandmeyer, daselbst **31**. 40. — M. Hahn u. M. Nencki, Arch. des sc. biol. **1**. 449. 1892; Arch. f. exper. Pathol. **32**. 186. 1893.

[3]) E. Külz, a. a. O. **20**. 165 u. **23**. 329. — Minkowski, a. a. O. **18**. 147.

[4]) A. Deichmüller, F. Szymanski u. B. Tollens, Ann. d. Chem. **228**. 92. 1885.

g. Das Cadmiumsalz krystallisirt schwer in langstrahligen Sternen und ist wenig hygroskopisch.

h. Das Kupfersalz wird aus der alkoholischen Lösung durch Aether in schnell zerfliessenden Flocken gefällt.

i. Die Salze der Säure werden weder durch Bleizucker, noch durch Bleiessig, oder Bleiessig und Ammoniak gefällt.

3. Beim Erhitzen mit Wasser oder verdünnter Schwefelsäure wird die β-Oxybuttersäure in die bei 71—72° schmelzende α-Crotonsäure $CH_3:CH.CH.COOH$ und Wasser zersetzt (Stadelmann; R. Külz; Deichmüller, Szymanski und Tollens[1]).

Aus einer verdünnten Lösung von β-Oxybuttersäure destillirt nach Araki[2]) erheblich weniger α-Crotonsäure über, als aus einer Lösung von α-Crotonsäure; erst wenn die Lösung der Oxybuttersäure eine Concentration von 10% erreicht hat, wird die Zersetzung eine lebhafte.

4. Durch Oxydation mit Chromsäuremischung liefert die β-Oxysäure Aceton $CH_3.CO.CH_3$ (E. Külz; Minkowski; Deichmüller, Szymanski und Tollens).

5. Bei der Gährung von β-oxybuttersaurem Kalk mit fauligem Pepton wird nach Araki[2]) vorwiegend Kohlensäure, Wasserstoff, Methan und Essigsäure erhalten; Methan und ein Theil der Kohlensäure stammen aus der Essigsäure.

C. *Darstellung* der Säure. Bei der Darstellung der Säure aus diabetischem Harn pflegt man den Zucker vorher vergähren zu lassen. Verwendet man dazu käufliche Hefe und nicht sterilisirten Harn, so kann dabei Milchsäure entstehen und die Oxybuttersäure verunreinigen. Von dieser Bildung von Milchsäure hat sich Kossler in meinem Laboratorium (auch durch Elementaranalyse) überzeugt.

a. Nach Stadelmann[3]). Man lässt diabetischen Harn, welcher die Säure enthält, nach Zusatz von 0.2% Salicylsäure mit Hefe vergähren, kocht ihn darauf zur Entfernung des Harnstoffes mit frisch gelöschtem Kalk im Ueberschuss so lange, als sich noch Ammoniak entwickelt, dampft ein, zieht den Rückstand mit Alkohol aus, verdunstet den Alkohol, säuert den Rückstand mit Schwefelsäure an, filtrirt und schüttelt die β-Oxybuttersäure mit Aether aus. Der Verdunstungsrückstand der ätherischen Lösung wird in Wasser aufgenommen, auf dem Wasserbade mit kohlensaurem Zink erwärmt, die Lösung filtrirt und zur Krystallisation auf dem Wasserbade vorsichtig eingedampft. Die Krystalle werden durch Absaugen von der Mutterlauge getrennt, mit absolutem Alkohol gewaschen und umkrystallisirt. Aus der Mutterlauge und der Waschflüssigkeit lässt sich noch mehr Zinksalz gewinnen. Aus dem Zinksalz erhält man die Säure durch Zersetzen desselben mit Schwefelwasserstoff.

b. Deichmüller, Szymanski und Tollens dampften diabetischen Harn direkt ein, zogen den Rückstand mit heissem Alkohol aus und den Abdampfungsrückstand mit Säure und Aether. Der braune urinös riechende Syrup wurde mit kohlensaurem Natron gesättigt. Nach längerem Stehen über Schwefelsäure erstarrte die Lösung zu einer weichen krystallinischen Masse, die abgepresst, gelöst und wieder zur Krystallisation gebracht wurde.

c. Nach E. Külz[4]). Mit Hefe vergohrener diabetischer Harn wird zum Syrup verdunstet und nach dem Neutralisiren mit kohlensaurem Natron noch weiter ein-

---

[1]) Stadelmann, Ztschr. f. Biol. **21**. 141. 1885. — R. Külz, Archiv f. exper. Pathol. **18**. 291. 1884.

[2]) T. Araki, Ztschr. f. physiol. Ch. **18**. 2. 1893.

[3]) Stadelmann, a. a. O. **23**. 457.

[4]) E. Külz, a. a. O. **23**. 329.

gedampft, der Rückstand mit dem dreifachen Volumen 95 proc. Alkohol vermischt, das Filtrat verdunstet, der Rückstand wieder mit Alkohol versetzt und das Verfahren so oft wiederholt, bis absoluter Alkohol keinen Niederschlag mehr bewirkt. Von der letzten Lösung wird der Alkohol abdestillirt, der Rückstand zur Entfernung des Alkohols dreimal mit dem gleichen Volumen Aether ausgeschüttelt, mit Schwefelsäure angesäuert und nun mit Aether erschöpft. Die nach dem Abdestilliren des Aethers bleibende Flüssigkeit wird vorsichtig mit basisch essigsaurem Blei ausgefällt, das Filtrat mit Schwefelwasserstoff behandelt, wieder filtrirt und zur Entfernung der Essigsäure wiederholt nach starkem Verdünnen mit Wasser abgedampft. Die zurückbleibende Säure wird darauf erst in das Barytsalz, dann durch schwefelsaures Silber in das Silbersalz übergeführt, dieses durch Umkrystallisiren gereinigt und durch Schwefelwasserstoff zerlegt. Beim Abdampfen des Filtrats hinterbleibt die Säure als farbloser Syrup, aus dem sich auf Zusatz von absolutem Alkohol meist noch einige Kryställchen abscheiden.

Die Salze kann man aus der Säure durch Sättigen mit den entsprechenden Metallhydraten oder -carbonaten darstellen, oder aus dem Barytsalz, das man wohl am Besten aus der reinen Säure und kohlensaurem Baryt gewinnt, durch Versetzen mit den entsprechenden Metallsulphaten. Das Silbersalz lässt sich auch aus dem Natronsalz durch salpetersaures Silber darstellen (D. a). Es scheidet beim Umkrystallisiren schwarze Flocken ab, was sich einschränken lässt, wenn man die warme Lösung des Salzes stark abkühlt und die Mutterlauge schnell entfernt. Für die Reinigung des rohen nach C. c. erhaltenen Barytsalzes hat Külz (a. a. O.) eine Vorschrift gegeben.

D. *Nachweis.* Man untersucht den Harn zunächst mit Eisenchlorid auf Acetessigsäure (§ 13 C). Nur in solchen Harnen, welche die Reaction geben, hat man die Gegenwart von β-Oxybuttersäure zu erwarten. Aber nicht jeder solcher Harn enthält auch die . -Oxybuttersäure. Man hat dann noch den Harn, zuckerhaltigen Harn nach der Vergährung mit Hefe, nach E. Külz so zu untersuchen, dass man ihn mit essigsaurem Blei und Ammoniak ausfällt und polariskopisch untersucht; dreht er dann noch links (vergl. § 14 D), so ist die Anwesenheit der β-Oxybuttersäure sehr wahrscheinlich. Für die weitere Untersuchung bedient man sich einer der folgenden Methoden.

a. Nach Minkowski[1]) löst man den ätherischen Auszug des angesäuerten Alkoholextracts in Wasser, filtrirt von schmieriger Substanz ab, entfärbt möglichst mit Thierkohle, neutralisirt genau mit Natronlauge und dampft zu einem dicken Syrup ein. Versetzt man diesen mit einigen Tropfen concentrirter Silbernitratlösung, so erstarrt er, bei Gegenwart der gesuchten Säure, zu einem Brei von haarfeinen, dicht verfilzten Nadeln. Nach dem Umkrystallisiren aus lauwarmem Wasser kann das Salz auf sein Drehungsvermögen untersucht und von ihm eine Silberbestimmung gemacht werden.

b. Nach Külz dampft man den Harn, diabetischen nach dem Vergähren, zum Syrup ein und unterwirft den Rückstand nach Zusatz des gleichen Volumens concentrirter Schwefelsäure der Destillation so, dass man das Destillat direkt, ohne Kühlung, (in einem Reagensglas) auffängt. Bei Gegenwart von β-Oxybuttersäure enthält das Destillat α-Crotonsäure, welche man durch starkes Abkühlen des Destillats zur Krystallisation bringen kann. Man presst diese Säure ab und bestimmt ihren Schmelzpunkt (71—72°). Ist nur wenig Crotonsäure vorhanden, so braucht sie nicht auszukrystallisiren. Man schüttelt dann das Destillat mit Aether aus und lässt diesen verdunsten, wobei die Säure zurückbleibt. Beimengungen anderer

1) Minkowski, a. a. O. 41.

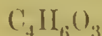
flüchtiger Substanzen (Benzoësäure, Parakresol, Salicylsäure) lassen sich durch Waschen der Crotonsäure mit Wasser entfernen. Diabetischen Harn kann man auch, ohne ihn vergähren zu lassen, bei alkalischer Reaction eindampfen, den Rückstand mit Schwefelsäure und 0,1 Volumen Aether ausschütteln und den Verdampfungsrückstand des Auszugs zu der Destillationsprobe verwenden. Manchmal genügen einige Cubikcentimeter Harn, von diabetischem Harn nimmt man 100 cc oder mehr in Arbeit.

Bei den Extractionen mit Aether wird der Apparat von Schwarz (S. 185) gute Dienste leisten.

Eine Schätzung der vorhandenen Menge an β-Oxybuttersäure lässt sich nach Wolpe[1]) erreichen, wenn man den Alkoholauszug von 0.5 bis 1 *l* Harn mit Schwefelsäure und Aether extrahirt und die so gewonnene β-Oxybuttersäure polarimetrisch bestimmt.

Dazu muss die Behandlung des angesäuerten Alkoholauszugs mit Aether so lang wiederholt werden, als noch Säure in Lösung geht. Von Zucker befreit man die ätherische Lösung durch Schütteln mit wenig Wasser; da dabei wieder etwas Säure in das Waschwasser übergeht, so wäscht man, um den Verlust einzuschränken, jede neue Aetherportion mit dem schon benützten Wasser. Die gesammten ätherischen Auszüge werden verdunstet, der leicht bräunliche Rückstand nach dem Verdünnen durch Wasser mit Bleiessig gefällt, das Filtrat mit Schwefelwasserstoff entbleit, auf ein bestimmtes Volumen (25—50 cc) gebracht und polarisirt. Mit dem Coëfficienten $[\alpha]_D = -20^0$ fand Wolpe gegen 90 % dem Harn zugesetzter Säure wieder.

§ 13. Acetessigsäure.





Syn.: Diacetsäure.

Gerhardt, welcher zuerst Rothfärbung mancher Harne durch Eisenchlorid wahrnahm, bezog diese Reaction auf die Gegenwart von Acetessigäther. v. Jaksch, Deichmüller und Tollens[2]) haben darauf gezeigt, dass die fragliche Substanz die Acetessigsäure selbst ist.

B. *Vorkommen.* Nach den Untersuchungen von v. Jaksch, Deichmüller, Seifert, Penzoldt, Litten u. A. kommt die Acetessigsäure im Harn vor, besteht nach v. Jaksch »Diaceturie«, bei schweren Fällen von Diabetes, sowie beim Uebergang zur animalischen Kost (Wolpe, Rosenfeld), in malignen Fällen von acuten fieberhaften Erkrankungen verschiedenster Art bei Erwachsenen, häufiger im Eruptionstadium acuter Exantheme (Scharlach, Masern), auch leichter Art, namentlich bei Kindern, bei der Cholera (G. Hoppe-Seyler; Terray, Vas und Gara), ferner zeitweilig bei Magencarcinom, Verdauungsstörungen der verschiedensten Art (Lorenz)

---

1) Wolpe, a. a. O. 140.

2) Gerhardt, Wiener med. Presse 28. 1865. — v. Jaksch, Prager med. Wochenschr. 1880. 204; Berichte d. chem. Gesellsch. **15**. 1496. 1882; Ztschr. f. physiol. Ch. **7**. 487. 1882/83. — Deichmüller, Ann. d. Ch. **209**, 22. 1881. — Tollens, Archiv f. klin. Med. **28**. 193. 1881; Ann. d. Ch. **209**. 30.

(Autointoxication, bei Säufern). Sie findet sich auch bei hungernden Personen und bei vorwiegender Ernährung Gesunder mit Fleisch (v. Engel, Hirschfeld[1]). Die Acetessigsäure ist ein steter Begleiter der β-Oxybuttersäure, doch kommt sie auch für sich vor; sie entsteht aus der β-Oxybuttersäure.

Im Hunger wurde sie gefunden bei abstinirenden Geisteskranken von Siemens, Tuczek, Külz, nach einer Schwefelsäurevergiftung von G. Hoppe-Seyler, bei einem hungernden Gesunden von F. Müller; bei diesem trat schon am ersten Hungertag Diaceturie auf und war am dritten Tag sehr stark. Die Acetessigsäure verschwand sofort wieder bei der Nahrungsaufnahme. Im Harn von hungernden Hunden und Kaninchen fanden Külz sowie Sandmeyer[2]) die Acetessigsäure nicht auf. Bei Gesunden erscheint sie namentlich, wie bei Diabetikern, beim Uebergang zur Fleischkost (v. Engel).

Bei Kindern tritt die Diaceturie, wie die Acetonurie, nach Schrack[3]) sehr häufig auf, sie ist fast constant bei hohem andauernden Fieber jedweder Art vorhanden und häufig auch bei Infectionsprocessen (Diphtherie) ohne Fieber.

Bei Diabetes kann unter strenger Diät der Zucker lange Zeit im Harn fehlen und die Ausscheidung von Acetessigsäure doch fortdauern, wie Weintraud in einem Fall beobachtet hat. v. Mering und Minkowski fanden die Säure auch manchmal bei Pankreasdiabetes auf, Sandmeyer[4]) vermochte sie aber in keinem Falle nachzuweisen.

Nach der Verabreichung grosser Gaben von β-Oxybuttersäure tritt im Harn der Versuchsthiere nach Minkowski und nach Araki Acetessigsäure (und Aceton) auf, aber, nach Weintraud, nicht nach der Einverleibung der der Acetessigsäure homologen Levulinsäure. Nach Albertoni erscheint verabreichte Acetessigsäure im Harn der Hunde nur bei alkalischer oder schwach saurer Reaction des Harns wieder. Beim Menschen hängt dagegen die Diaceturie nach v. Jaksch und nach G. Rosenfeld[5]) nicht von der Reaction des Harns ab.

Zwischen der Ausscheidung von Acetessigsäure und Zucker findet kein Parallelismus statt (v. Jaksch, Wolpe).

---

1) v. Jaksch, Prager Ztschr. f. Heilk. **3**. 17; Verhandlungen des 2. Congresses f. innere Med. 1883. 269; Ueber Acetonurie und Diaceturie, Berlin 1885. 118. — Deichmüller, Centralbl. f. klin. Med. 1. 1882. — Seifert, Verhandlungen d. physik. medic. Gesellsch. zu Würzburg [2] **17**. No. 4. — Penzoldt, Archiv f. klin. Med. **34**. 137. 1884. — Litten, Ztschr. f. klin. Med. **7**. Suppl.-Heft 81. — H. Wolpe, Archiv f. exper. Pathol. **21**. 138. — G. Rosenfeld, Deutsche med. Wochenschr. 40. 1885; Virchow-Hirsch's Jahresb. 1885. **1**. 268. — G. Hoppe-Seyler, Berliner klin. Wochenschr. 43. 1892. — P. Terray, B. Vas u. G. Gara, daselbst 12—15. 1893. — Lorenz, Ztschr. f. klin. Med. **19**. 19. 1891. — v. Engel, Ztschr. f. klin. Med. **20**. 514. 1892. — F. Hirschfeld, Deutsche med. Wochenschr. 38. 1893.

2) F. Siemens, Archiv f. Psychiatrie und Nervenkrankheiten **14**. 593. — Tuczek, Archiv f. Psych. u. Nervenkrankh. **15**. 784. — E. Külz, Ztschr. f. Biol. **23**. 338. 1887. — G. Hoppe-Seyler, Ztschr. f. klin. Med. **6**. 478. 1883. — Friedr. Müller, Berliner klin. Wochenschr. 1887. 434; Virchow's Archiv **131**. Suppl. 135. 1893. — W. Sandmeyer, Ztschr. f. Biol. **31**. 40. 1894.

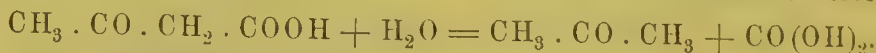
3) K. Schrack, Jahrb. f. Kinderheilk. **29**. 411. 1891.

4) W. Weintraud, Arch. f. exper. Pathol. **34**. 174. 1894. — v. Mering u. Minkowski, daselbst **26**. 378. 1890. — W. Sandmeyer, Ztschr. f. Biol. **29**. 94. 1892; **31**. 40. 1894.

5) Minkowski, Arch. f. exper. Pathol. **31**. 182. 1893. — T. Araki, Ztschr. f. physiol. Ch. **18**. 6. 1893. — Weintraud, Archiv f. exper. Pathol. **34**. 367. 1894. — Albertoni, daselbst **18**. 236. — v. Jaksch, Ueber Acetonurie etc. 124. — G. Rosenfeld, a. a. O.

B. *Eigenschaften.* Die Acetessigsäure ist bisher nur von Ceresole[1]) in reinem Zustand untersucht worden.

1. Sie bildet eine dickliche, farblose, stark saure, hygroskopische, mit Wasser in jedem Verhältniss mischbare, in Aether lösliche Flüssigkeit, welche sich schon unter 100° zu Aceton und Kohlensäure zersetzt:



$$CH_3 . CO . CH_2 . COOH + H_2O = CH_3 . CO . CH_3 + CO(OH)_2.$$

2. Aus Carbonaten treibt sie die Kohlensäure aus. Die von ihr dargestellten Salze (K, Ba, Ag, Cu) sind leicht löslich; in verdünnter Lösung sind sie (das Kalisalz) haltbar, in concentrirter Lösung zersetzen sie sich bei gewöhnlicher Temperatur langsam, beim Erwärmen schnell zu Aceton und Carbonat. Auch in trockenem Zustand zersetzen sich die Salze wie ihre Lösungen.

3. Mit Eisenchlorid färben sich die Säure wie ihre Salze violettroth, bei Ueberschuss von Eisenchlorid braunroth, nach Krukenberg[2]) ohne irgend ein scharf begrenztes Absorptionsband. Diese Färbung verblasst nach v. Jaksch in der Kälte binnen 24 Stunden, schneller in der Wärme, sowie auf Zusatz einer Mineralsäure.

4. Versetzt man nach Mörner[3]) einen Acetessigsäure enthaltenden Harn mit wenig Jodkalium und Eisenchlorid im Ueberschuss und kocht auf, so entwickeln sich die Schleimhäute stark reizende Dämpfe, vielleicht Jodaceton. Auch nach dem Erkalten der Flüssigkeit ist diese Erscheinung bei Gegenwart grösserer Mengen Acetessigsäure noch wahrnehmbar. Die Dämpfe sind von denen des Jods, welche sich bei Ueberschuss von Jodkalium entwickeln, leicht zu unterscheiden.

5. Sie giebt nach Hemala, Egeling sowie Denigès[4]) mit Nitroprussidnatrium dieselbe Farbenreaction wie das Aceton (§. 5 B. 4. a. S. 57).

C. *Nachweis.* Da die Acetessigsäure beim Stehen des Harns längstens in 24—48 Stunden verschwindet, so muss der Harn möglichst frisch untersucht werden.

a. Man versetzt den Harn so lang mit Eisenchlorid, als er noch einen Niederschlag giebt, filtrirt wenn nöthig vom Eisenphosphatnieder-

---

[1]) M. Ceresole, Berichte d. chem. Gesellsch. **15.** 1326 u. 1871. 1882.

[2]) Krukenberg, Verhandl. d. physik.-med. Gesellsch. zu Würzburg, N. F. **18.** 196.

[3]) K. A. H. Mörner, Skandin. Archiv **5.** 276. 1895.

[4]) R. Hemala, Krukenberg's chem. Unters. zur wissensch. Med. Jena 1888. 117. — C. G. Egeling, Nederl. Tijdschr. voor Pharmazie **6.** 217; — Chem. Centralbl. 1894. **2.** 447. — G. Denigès, Bull. de la Soc. chim. [3]. **15.** 1058. 1896.

schlag ab und fügt noch etwas Eisenchlorid zu. Bei Gegenwart von Acetessigsäure ist das Filtrat bordeauxroth.

Diese Probe ist in sofern nicht ganz verlässlich, als auch andere Substanzen dieselbe oder eine ähnliche Färbung darbieten, so die ameisensauren und essigsauren Salze, Rhodanide, Salicylsäure, Phenol, welches beim Harn nicht in Betracht kommt, Skatoxylschwefelsäure, Skatolkohlensäure, und diejenigen Körper, welche nach dem Gebrauch von Antipyrin, Kairin, Thallin, Chinanisol im Harn vorhanden sind. Diese Färbungen lassen sich nach v. Jaksch[1]) jedoch ziemlich gut von der der Acetessigsäure unterscheiden. In den Antipyrin-, Thallin- und Chinanisolharnen tritt die Färbung erst nach 2—3 Minuten ein; sie ist bei der Salicylsäure violett, bei Kairinharn braunroth, bei Antipyrin- und Thallinharn purpurroth und geht im Thallinharn binnen 3—4 Stunden in Braunroth über. Bei allen diesen Körpern ist die Färbung im Gegensatz zu der der Acetessigsäure bei längerem Stehen beständig, beim Kochen verschwindet nur die durch ameisensaures und essigsaures Eisen bewirkte Rothfärbung, unter Bildung eines eisenoxydfarbenen Niederschlags von basischem Salz, und die Färbung des Thallinharnes.

b. Die Probe von Mörner (B. 4.) ist so empfindlich wie die Eisenchloridreaction. Nach v. Jaksch[2]) geben jedoch auch acetonreiche, aber von Acetessigsäure freie Harne dieselbe Reaction; darnach ist sie nicht eindeutig.

c. Man säuert den Harn stark mit Schwefelsäure an und zieht ihn mit Aether aus. Schüttelt man darauf den abgehobenen Aether mit wenig einer sehr verdünnten Eisenchloridlösung, so färbt sich die wässrige Schicht bei Gegenwart von Acetessigsäure schön violett, auf Zusatz von mehr Eisenchlorid bordeauxroth. Die Färbung ist nicht beständig, namentlich nicht in der Wärme. — Es genügen 50 cc Harn zu dem Versuch.

Ameisensäure und Essigsäure geben diese Reaction nicht, bei Gegenwart von Sulfocyanwasserstoff ist nicht die wässrige Schicht, sondern die ätherische Lösung roth. Die Salicylsäure wird dem angesäuerten Harn durch Benzol oder Chloroform entzogen, die Acetessigsäure dagegen nicht. Bei allen andern der genannten Körper ist die Färbung der wässrigen Schicht beim Stehen beständig und nur beim Thallinharn verschwindet sie beim Kochen. Der native Thallinharn giebt aber an Aether eine Substanz ab, welche sich auf Zusatz von Eisenchlorid vorübergehend grün färbt.

Das Verhalten der Skatoxylschwefelsäure und Skatolkohlensäure bei beiden Reactionen ist nicht untersucht, doch sind von ihnen keine Störungen zu erwarten.

d. Bekräftigt werden diese Reactionen noch dadurch, wenn das Destillat des Harns reich an Aceton ist; für sich allein beweist dieser Umstand für die Anwesenheit der Acetessigsäure jedoch nichts oder nur wenig.

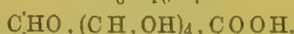
e. Quantitativ lässt sich die Acetessigsäure in der Form von Aceton und auf dieselbe Art bestimmen.

---

[1]) v. Jaksch, Prager Ztschr. f. Heilk. a. a. O.; Ueber Acetonurie etc. 110.
[2]) v. Jaksch, Klinische Diagnostik, 4. Aufl. 1896. 423.

§ 14. Glykuronsäure.


$C_6H_{10}O_7$.


$CHO.(CH.OH)_4.COOH$.

A. *Vorkommen.* Die Glykuronsäure kommt nicht als solche im Harn vor, sondern tritt in glykosidartiger Verbindung mit den verschiedensten fetten und vorzüglich aromatischen Alkoholen auf. (Vergl. diesen § C.)

de Chalmot[1]) unterwarf den Abdampfungsrückstand von 200 cc normalem Harn der Destillation mit Salzsäure und gewann dabei weniger als 25 mg Furfurol; wenn blos Glykuronsäure das Furfurol geliefert hätte, so wären in den 200 cc Harn weniger als 40—50 mg Glykuronsäure enthalten gewesen.

Die zuerst bekannt gewordene Verbindung dieser Art ist die von Musculus und v. Mering entdeckte Urochloralsäure (Trichloräthyl-Glykuronsäure). Nachdem Jaffé das Bestehen der Glykuronsäure wahrscheinlich gemacht hatte, ist sie von Schmiedeberg und H. Meyer zuerst dargestellt und die Constitution ihrer Verbindungen erkannt worden. Weiter untersucht wurde die Glykuronsäure von Spiegel, von E. Külz und namentlich von Thierfelder[2]). Im normalen Harn kann die Glykuronsäure vorkommen in Verbindung mit Indoxyl, Skatoxyl, Parakresol, Phenol und anderen Phenolen.

Neben stickstofffreien gepaarten Glykuronsäuren findet sich im Harn manchmal noch gepaarte stickstoffhaltige Glykuronsäure, welche beim Erhitzen mit Barythydrat die stickstofffreie gepaarte Glykuronsäure neben Ammoniak und kohlensaurem Baryt liefert: Uramido-Glykuronsäure (Wiedemann, Schmiedeberg und Meyer, Schmiedeberg, Pellacani[3]). Sie ist nicht zu verwechseln mit den Harnstoffsalzen organischer Säuren, welche einige Male aus Harn gewonnen wurden.

B. *Eigenschaften.* 1. Die Säure bildet einen in Wasser und Alkohol löslichen Syrup. Sie dreht die Ebene des polarisirten Lichtes nach rechts. Bei einstündigem Kochen mit Wasser liefert sie $20\,^0/_0$ eines laktonartigen Anhydrids, bei längerem Kochen nicht mehr.

2. Das Anhydrid (Lakton) Glykuron, $C_6H_8O_6$, bildet wasserhelle, dicke, monokline Tafeln, welche nach Thierfelder um 167^0, nach Mann und Tollens[4]) bei $170—175^0$ unter Bräunung und Zersetzung schmelzen. Es löst sich sehr leicht in Wasser, gar nicht in Alkohol: es schmeckt süss und etwas bitter. Seine Lösungen drehen rechts. In 5—14 proc. Lösung beträgt bei 18^0 C. nach Thierfelder $[\alpha]_D = 19.4^0$ (Mittel aus 5 Bestimmungen), in 3 proc. Lösung nach Külz gleichfalls $= 19.4^0$, in 2 proc. Lösung bei $22{,}6^0$ nach Mann und

---

1) G. de Chalmot, Ber. d. chem. Gesellsch. **25**. 2571. 1891.

2) Musculus und v. Mering, Berichte d. chem. Gesellsch. **8**. 662. 1875. — Jaffé, Ztschr. f. physiol. Ch. **2**. 59. 1878/79. — O. Schmiedeberg und H. Meyer, Ztschr. f. physiol. Ch. **3**. 422. 1879. — A. Spiegel, Berichte d. chem. Gesellsch. **15**. 1965. 1882. — E. Külz, Ztschr. f. Biologie **23**. 475. 1887. H. Thierfelder, Ztschr. f. physiol. Ch. **11**. 388. 1887; **13**. 275. 1889.

3) C. Wiedemann, Archiv f. exper. Pathol. **6**. 232. 1877. — Schmiedeberg u. Meyer, a. a. O. 446. — Schmiedeberg, Archiv f. exper. Pathol. **14**. 307. 1881. — P. Pellacani, das. **17**. 390. 1883.

4) F. Mann u. B. Tollens, Ann. d. Chem. **290**. 156. 1896.

Tollens im Mittel 18,17°. Nach Thierfelder scheint die spec. Drehung mit dem Wachsen der Concentration der Lösungen etwas abzunehmen; mit steigender Temperatur der Lösung wächst sie.

3. Das Glykuron ist in trocknem Zustand haltbar, bei Gegenwart von Feuchtigkeit und namentlich von (Spuren) Mineralsäure bräunen sich die Krystalle und zerfliessen. Seine wässrige Lösung ist in der Kälte beständig, bei Wasserbadtemperatur geht aber ein Theil des Laktons in die Säure über. Ebenso verwandelt sich das Glykuron beim Behandeln mit Alkali- oder Erdalkalihydraten und -carbonaten in die Glykuronsäure.

4. Die Glykuronsäure ist einbasisch, ihre normalen Salze sind in Wasser löslich.

a. Eine 10proc. Lösung des Kalisalzes wird nach Thierfelder durch gleich concentrirte Lösungen von Zink-, Cadmium-, Kupfer-, Magnesiumsulphat, Eisenchlorid, essigsaurem Quecksilber, Strontian- und Silbernitrat nicht gefällt. Mit überschüssigem Baryumhydrat bildet die Säure ein schwer lösliches basisches Salz. Das Anhydrid wird nicht durch Bleizucker, wohl aber durch Bleiessig gefällt, es löst kohlensauren Baryt unter Brausen zu glykuronsaurem Salz.

b. Das Kalisalz $C_6H_9KO_7$ (bei 100°) krystallisirt nach Thierfelder leicht in farblosen stark lichtbrechenden Nadeln mit 4 Prismenflächen und domatischen Abstumpfungen, auch in blumenkohlartigen Massen, bräunt sich in feuchtem Zustand an der Luft, hält sich aber über Schwefelsäure unverändert. Das Salz dreht ebenso stark rechts wie das in ihm enthaltene Anhydrid.

c. Das Natronsalz krystallisirt gleichfalls leicht in dendritisch verzweigten radiär gestellten Nadeln.

d. Das Kalk-, Baryt-, Zink-, Silber-, Cadmium- und Kupfersalz sind bisher nur amorph gewonnen worden; das Bleisalz ist gewöhnlich amorph, einmal wurde es (von Schmiedeberg und Meyer) in farblosen Nadeln erhalten. Das Barytsalz wird durch Alkohol aus seiner wässrigen Lösung gefällt und bildet nach dem Trocknen im Vacuum ein ausserordentlich lockeres weisses oder gelbliches Pulver. Das basische Barytsalz fällt aus einer concentrirten Lösung des Barytsalzes oder des Glykurons auf Zusatz von Barytwasser in Flocken aus, bei Verwendung des Anhydrids nur allmählich.

5. Schüttelt man eine Lösung von 1 Mol. Glykuronsäure mit nur 9 Mol. Benzoylchlorid und 12 Mol. Natriumhydrat (in 10proc. Lösung), so erhält man einen zähen, in Wasser unlöslichen, in Alkohol, namentlich in warmem, leicht löslichen Niederschlag von Dibenzoyl-Glykuronsäure $C_6H_8O_7(CO . C_6H_5)_2$. Die Substanz schmilzt für sich bei 107°, unter Wasser aber schon bei gelinder Wärme; sie reducirt Fehling'sche Lösung. Verwendet man zur Darstellung der Verbindung viel mehr Natronlauge, so ist die Ausbeute gering (Thierfelder).

6. Wie der Traubenzucker liefert nach Thierfelder[1]) auch die Glykuronsäure eine Verbindung mit Phenylhydrazin. Sie scheidet sich (ungefähr 25 % der Säure) sehr langsam in schön gelben, sich bräunenden Nadeln vom Schmelzpunkt 114—115° ab.

1) Thierfelder, a. a. O. **11**. 395.

Nach dem Lösen derselben in Alkohol wurde die Verbindung amorph erhalten; sie besitzt eine der Formel $C_{21}H_{24}N_5O_5$ entsprechende Zusammensetzung, während dem Phenylosazon der Glykuronsäure die Formel $C_{18}H_{20}N_4O_5$, dem Phenylhydrazinsalz dieser die Formel $C_{24}H_{28}N_6O_5$ und einem Gemenge oder einer Verbindung beider nach gleichen Molekülen die erste Formel zukäme. Das Osazon wird nur erhalten bei Verwendung eines Alkalisalzes der Säure; das Glykuron giebt bei der Behandlung mit essigsaurem Phenylhydrazin nach Thierfelder braune Tröpfchen und eine schwarze Masse. — Nach Geyer sowie Hirschl[1]) besitzen die Krystalle dasselbe Aussehen und dieselben Löslichkeitsverhältnisse wie die des Phenylglucosazons.

7. Glykuronsaures Kali vereinigt sich nach Thierfelder unter Austritt von 1 Mol. Wasser zu gleichen Mol. mit Anilin und unter Austritt von 2 Mol. Wasser zu 2 Mol. mit 1 Mol. Toluylendiamin. Die krystallisirenden Verbindungen entsprechen den analogen des Traubenzuckers; sie drehen, wie die gepaarten Glykuronsäuren, links.

8. Bei anhaltendem Erwärmen mit Wasser zersetzen sich Säure und Anhydrid unter Bildung brauner Produkte.

9. Die Glykuronsäure giebt die Reductionsproben des Traubenzuckers. Wird die Glykuronsäure anhaltend mit starker Kalilauge erhitzt, so liefert sie nach Thierfelder, wie der Traubenzucker unter Bräunung der Lösung, Brenzkatechin und Protokatechusäure, aber im Gegensatz zum Zucker keine Milchsäure, sondern Oxalsäure. Dementsprechend giebt die Glykuronsäure nach Moritz[2]) auch die Rubner'sche Zuckerprobe mit Bleihydrat (S. 113). Das Anhydrid (und die Säure) reducirt Kupfer- und Wismuthoxyd in alkalischer Lösung, ferner ammoniakalische Silberlösung und alkalische Indigolösung. Gegen Fehling'sche Lösung ist das Reductionsvermögen des Anhydrids ebenso gross, wie das der Dextrose (Thierfelder).

10. Beim Erhitzen mit verdünnter (12 proc.) Salzsäure liefert die Glykuronsäure nach Tollens und seinen Mitarbeitern, wie die Pentosen, reichliche Mengen von Furfurol nach



$$C_6H_8O_6 = C_5H_4O_2 + 2\,H_2O + CO_2.$$

Das Glykuron liefert dabei nach Mann und Tollens jedoch statt der berechneten 51,55% Furfurol nur 15—17%, aber die berechnete Menge Kohlensäure; ein Theil des Glykurons wird dabei in Huminsubstanzen verwandelt. Die gepaarten Glykuronsäuren: Euxanthinsäure, Urochloralsäure und Urobutylchloralsäure ergaben dagegen die berechnete Menge Furfurol. Das Furfurol wurde als Phenylhydrazon gewogen.

In älteren Versuchen, in welchen das Furfurol in weniger verlässlicher Weise mit Phenylhydrazin titrirt wurde, erhielten Günther und Tollens aus der Glykuronsäure 46% Furfurol, de Chalmot und Tollens[3]) aus der Euxanthinsäure auf Glykuron berechnet nur 29%, aus der Urochloralsäure ebenso nur 31% Furfurol.

---

[1]) J. Geyer, Wiener med. Presse 1889. 1686. — J. A. Hirschl, Ztschr. f. physiol. Ch. **14**. 381. 1890.

[2]) F. Moritz, Archiv f. klin. Med. **46**. 265. 1890.

[3]) F. Mann u. B. Tollens, Ann. d. Ch. **290**. 157. 1896. — A. Günther, G. de Chalmot u. Tollens, Ber. d. chem. Gesellsch. **23**. 1751. 1890; **25**. 2569. 1892.

Thierfelder wies nach, dass bei derartiger Zersetzung der Glykuronsäure keine Levulinsäure $C_5H_8O_3$ entsteht; er erhielt neben Ameisensäure in sehr kleiner Menge eine Säure $C_5H_6O_3$, die mit keiner ihr isomeren identisch ist. Sie bildet hellgelbe kurze Säulen, schmilzt bei 197°, löst sich wenig in kaltem Wasser und in Aether, leicht in warmem Wasser und in Alkohol, giebt mit Barytwasser einen Niederschlag und reducirt alkalische Kupferlösung augenblicklich in der Kälte.

11. Brom oxydirt die Glykuronsäure nach Thierfelder[1]) zu Zuckersäure $COOH-(CH.OH)_4-COOH$, wie den Traubenzucker nach Kiliani zu Glykonsäure $CH_2.OH-(CH.OH)_4-COOH$.

12. Bei der Oxydation mit Chromsäure liefert die Glykuronsäure Kohlensäure, Ameisensäure (Schmiedeberg und Meyer) und Aceton (Flückiger[2]).

13. Durch Reduction mit Natriumamalgam geht die Glykuronsäure nach Thierfelder[3]) in die Gulonsäure $C_6H_{12}O_7$ über.

14. Mit Alkoholhefe gährt die Glykuronsäure nicht.

Bei der Gährung mit Kloakenschlamm liefert die Glykuronsäure anfangs Kohlensäure und Wasserstoff, denen sich später noch Sumpfgas hinzugesellt; zuletzt tritt nur Kohlensäure und Sumpfgas auf. Thierfelder erklärt dieses Resultat durch die Annahme, dass die Glykuronsäure zunächst in Essigsäure, Milchsäure und Kohlensäure, dann die Milchsäure in Essigsäure, Kohlensäure und Wasserstoff und endlich die Essigsäure in Kohlensäure und Sumpfgas zerlegt wird.

15. Bei der Behandlung mit Salzsäure und Phloroglucin oder Orcin geben die Glykuronsäure und ihre Paarlinge nach Tollens und seinen Mitarbeitern die Farbenreaction der Pentosen (S. 70), dieselbe Rothfärbung und dasselbe Spectrum. Auch gegen α-Naphtol zeigt die Glykuronsäure nach v. Udránszki sowie Luther ein dem Traubenzucker gleiches Verhalten, wenn man nach Luther[4]) zu starkes Erhitzen der Flüssigkeit vermeidet.

C. Die gepaarten Glykuronsäuren, glykosidartige Verbindungen verschiedener fetter Alkohole und Phenole mit der Glykuronsäure und wie diese selbst einbasische Säuren, haben alle die gemeinsame Eigenschaft, die Ebene des polarisirten Lichtes nach links zu drehen, sind aber in andern allgemeinen Eigenschaften von einander verschieden. Sie spalten sich durch Aufnahme von 1 Mol. Wasser in Glykuronsäure und die zugehörigen Alkohole; bei den meisten erfolgt diese Zersetzung erst beim Kochen mit verdünnten Säuren, oder beim Ueberhitzen mit Wasser, andere zersetzen sich dagegen schon in wässriger Lösung bei der Wärme des Wasserbades (Bromphenolmercaptur-Glykuronsäure) oder bei gewöhnlicher Temperatur (eine Terpen-Glykuronsäure). Einige von ihnen (Urochloralsäure, Uronitrotoluolsäure, Bromphenol-

---

[1]) Thierfelder, a. a. O. 11. 401; Berichte d. chem. Gesellsch. 19. 3148.
[2]) Flückiger, Ztschr. f. physiol. Ch. 9. 351. 1885.
[3]) Thierfelder, Ztschr. f. physiol. Ch. 15. 71. 1890; Ber. der chem. Gesellsch. 24. 521.
[4]) H. J. Wheeler u. B. Tollens, Ann. d. Ch. 254. 333; 260. 305. — Günther, de Chalmot u. Tollens, Berichte der chem. Gesellsch. 25. 2569. — v. Udránszky, Ztschr. f. physiol. Ch. 12. 389. — E. Luther, Ueber das Vorkommen von Kohlenhydraten im normalen Harn. Diss. 1890. 37.

mercaptur-Glykuronsäure, Paramidophenol-Glykuronsäure) reduciren wie Zucker Kupferoxyd und andere Metalloxyde in alkalischer Lösung, wieder andere (Butylchloralsäure, Trimethylcarbinol- und Dimethyläthylcarbinol-Glykuronsäure, Phenolglykuronsäure, Chinäthonsäure, Camphoglykuronsäure) thun es nicht, auch, wenn sie, wie einige von ihnen, Kupferhydrat bei Gegenwart von Alkalihydrat in Lösung halten. Die Urochloralsäure, die Phenol-, Naphtol-, Menthol- und Borneolglykuronsäure werden durch Bleiessig gefällt, die Trimethylcarbinol- und Dimethyläthylcarbinol-Glykuronsäure, die Camphoglykuronsäure dagegen nicht.

Die glykosidartige Beschaffenheit der gepaarten Glykuronsäuren wurde von E. Fischer dargethan. Die Bindung kann, wie bei den Zuckerarten, durch eines der zwei in der Aldehydgruppe des Glykuronsäurehydrats — $CH(OH)_2$ enthaltenen Hydroxyle erfolgen. Bei der Spaltung tritt nicht das Hydrat der Glykuronsäure mit — $CH(OH)_2$, sondern das Anhydrid (die gewöhnliche Glykuronsäure) mit — $CH.O$ auf, und daraus erklärt sich, worauf Graebe[1]) zuerst aufmerksam gemacht hat, dass die Spaltung dann ohne Aufnahme von Wasser erfolgt.

Diejenigen Alkohole, welche sich im Körper mit der Glykuronsäure verbinden können, vereinigen sich direkt mit ihr. Kohlenwasserstoffe werden vorher zu Alkoholen oxydirt, Aldehyde zu Alkoholen reducirt. Das Verhalten der Ketone ist so gut wie nicht bekannt. Manche der Alkohole, wie das Phenol, das Kairin, erscheinen nur dann als gepaarte Glykuronsäuren im Harn, wenn die verfügbare Schwefelsäure bereits an die Phenole gebunden ist, andere, wie das Naphtol, das Indol, treten sofort als gepaarte Glykuronsäuren auf. Zur Gewinnung der gepaarten Glykuronsäuren hat man sich bisher nur der Mithülfe des thierischen Organismus bedient; die Organismen der Hunde, Kaninchen und Menschen sind bei dieser Synthese nicht gleichwerthig. Die Darstellung ausserhalb desselben ist bisher nur von E. Fischer[1]) unternommen worden.

Die den Fettkörpern angehörigen Alkohole, welche gepaarte Glykuronsäuren liefern, sind alle mehrfach substituirt; die gewöhnlichen Alkohole geben keine solchen Verbindungen, wohl weil sie leichter vollständig oxydirt und so der Reaction entzogen werden. Gepaarte Glykuronsäuren geben der Trichloräthyl- und der Trichlorbutylalkohol ($CCl_3—CH_2.OH$ und $CH_3—CCl_2—CHCl—CH_2.OH$) (E. Külz[2]), der tertiäre Butylalkohol (Trimethylcarbinol $(CH_3)_3—C.OH$) und der tertiäre Amylalkohol (Dimethyl-Aethylcarbinol $(CH_3)_2—C.OH—C_2H_5$) (beim Kaninchen, nicht beim Hund und beim Menschen), wahrscheinlich auch das Pinakon (Hexylenglykol $(CH_3)_2—C.OH—C.OH—(CH_3)_2$) (beim Kaninchen) (Thierfelder und v. Mering[3]). Dem Trichloräthyl- und dem Trichlorbutylalkohol gleichwerthig sind ihre Aldehyde, das Chloralhydrat und das Butylchloralhydrat, welche nach vorläufiger Reduction zu den Alkoholen dieselben Produkte, Urochloral- und Urobutylchloralsäure (Trichloräthyl- und

---

1) E. Fischer, Ber. d. chem. Gesellsch. 26. 2041. — C. Graebe, Ann. d. Ch. 254. 278. 1889.
2) E. Külz, Ztschr. f. Biologie 20. 157. 1884.
3) H. Thierfelder u. J. v. Mering, Ztschr. f. physiol. Ch. 9. 511. 1885.

Trichlorbutyl-Glykuronsäure) liefern (Musculus und v. Mering, E. Külz, R. Külz), das Chloral nach Bongers[1]) auch bei Hühnern.

Nach der Verfütterung von Dichloraceton und von Acetessigäther stellte Sundvik aus dem Harn geringe Mengen von Glykuronsäurederivaten dar, welche er für Abkömmlinge des Dichlorisopropylalkohols und des Isopropylalkohols (CH_3—CH.OH—CH_3) zu halten geneigt ist. — Nach dem Gebrauch von Chloroform dreht der Harn links und reducirt (von Mering, Zeller). A. Kast giebt an, nach längerer Chloroformnarkose enthalte der Harn eine reducirende, nicht flüchtige chlorhaltige Säure, möglicher Weise ein Abkömmling des Trichlormethylalkohols. In ähnlichen Fällen fand E. Külz[2]) keine Urochloralsäure im Harn.

Von Verbindungen der Glykuronsäure mit aromatischen Substanzen sind dargestellt und näher untersucht worden die Phenolglykuronsäure nach Verabreichung von Phenol (E. Külz) und Benzol (Schmiedeberg), α- und β-Naphtolglykuronsäure nach den Naphtolen $C_{10}H_7$.OH oder Estern derselben (Lesnik und Nencki), die Euxanthinsäure $C_{19}H_{16}O_{10}$ nach Euxanthon $C_{13}H_6O_2(OH)_2$ (v. Kostanecki, E. Külz), nachdem die Constitution der Säure von Baeyer und Spiegel erkannt war, zwei verschiedene Säuren nach Verfütterung von Menthol $C_{10}H_{19}$.OH und Borneol $C_{10}H_{17}$.OH (Pellacani). Die aufgezählten Substanzen vereinigen sich direkt mit der Glykuronsäure. Die weiterhin genannten hydroxyllosen Verbindungen erfahren vorher eine Oxydation; der Campher $C_8H_{14}\begin{cases}CH_2\\ \cdot\\ CO\end{cases}$ wird zu Campherol $C_8H_{14}\begin{cases}CH.OH\\ \cdot\\ CO\end{cases}$ und giebt dann die Camphoglykuronsäure (Schmiedeberg und Meyer), auch bei Hühnern (Bongers), das Terpentinöl $C_{10}H_{16}$ giebt Terpinol $C_{10}H_{15}$.OH und darnach die Terpenoglykuronsäure (Schmiedeberg, Külz[3]).

Gepaarte Glykuronsäuren sind ferner erhalten worden vom Hydrochinon und Resorcin $C_6H_4(OH)_2$ (Külz), die Hydrochinonglykuronsäure auch nach Chinon $C_6H_4O_2$ (Schulz), und ebenso liefert Chloranil (Tetrachlorchinon, $C_6Cl_4O_2$) Tetrachlorhydrochinonglykuronsäure (Schulz). Das Phenetol C_2H_5.O.C_6H_5 wird wahrscheinlich zu Paraoxyphenetol, dem Aethyläther des Hydrochinons, C_2H_5.O.C_6H_4.OH oxydirt und liefert dann die Chinäthonsäure $C_{14}H_{18}O_9$ (Kossel), Orthonitrotoluol $NO_2—C_6H_4—CH_3$ giebt Orthonitrobenzylalkohol $NO_2—C_6H_4—CH_2$.OH und darauf Uronitrotoluolsäure (Jaffé). Das Thymol $C_3H_7.CH_3.C_6H_3$.OH giebt Thymolglykuronsäure (Külz, Blum),

---

1) Musculus u. v. Mering, a. a. O. — v. Mering, Berichte d. chem. Gesellsch. **15**. 1019. 1882; Ztschr. f. physiol. Ch. **6**, 480. 1882. — E. Külz, Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1881. 337; Pflüger's Archiv **28**. 506. 1882. — R. Külz, Pflüger's Archiv **33**. 221. 1884. — P. Bongers, Diss. Königsberg 1887; Centralbl. f. d. med. Wiss. 1889. 238.

2) Sundvik, Jahresb. f. Thierch. 1886. 76. — v. Mering, Berliner klin. Wochenschr. 1874. 246. — A. Zeller, Ztschr. f. physiol Ch. **8**. 75. — A. Kast, Berliner klin. Wochenschr. 1888. 37; Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1888. 585; Chem. Centralbl. 1888. 758; Jahresb. f. Thierch. **18**. 158. — E. Külz, Ztschr. f. Biol. **20**. 157. f.

3) E. Külz, Pflüger's Archiv **30**. 484. 1883. — Schmiedeberg, Archiv f. exper. Pathol. **14**. 307. — M. Lesnik u. M. Nencki, Berichte d. chem. Gesellsch. **19**. 1534; Archiv f. exper. Pathol. **24**. 168. 1887. — St. v. Kostanecki, Berichte d. chem. Gesellch. **19**. 2918. 1886. — E. Külz, Ztschr. f. Biol. **23**. 475. 1887. — Baeyer, Ann. d. Ch. u. Pharm. **155**. 257. — Spiegel, Ber. d. chem. Gesellch. **15**. 1965. — Pellacani, Archiv f. exper Pathol. **17**. 388. 1883. — Schmiedeberg u. Meyer, Ztschr. f. physiol. Ch. **3**. 422. — Bongers, a. a. O. — Schmiedeberg, Archiv f. exper. Pathol. **14**. 308. — E. Külz, Pflügers's Archiv **28**. 518; **30**. 485; Ztschr. f. Biologie **27**. 254. 1890.

das Acetophenon $C_6H_5 . CO . CH_3$ (Sundvik), das Resacetophenon $C_6H_3(OH)_2 . CO . CH_3$ und das Paraoxypropiophenon $C_6H_4(OH) . CO . CH_2 . CH_3$ die entsprechenden Verbindungen (Nencki). Aus den gepaarten Glykuronsäuren, welche nach Verabreichung von Acetanilid $CH_3 . CO—NH . C_6H_5$ entstehen, haben Jaffé und Hilbert beim Kaninchen Paramidophenol $H_2N . C_6H_4 . OH$ dargestellt, beim Hund Ortho-Oxycarbanil $C_6H_4 <\substack{N \\ O}> C . OH$, welches aus der Ortho-Phenolcarbaminsäure $C_6H_4 <\substack{NH.COOH \\ OH}$ durch Austritt von H_2O entstanden ist. Die dabei beim Menschen auftretende Glykuronsäure ist nach Mörner entweder Paramidophenol- oder Acetylparamidophenol-Glykuronsäure. Orthoacettoluid $CH_3 . CO—NH . C_6H_4 . CH_3$ liefert nach Jaffé und Hilbert beim Hund und beim Kaninchen Methyloxycarbanil. Sehr wahrscheinlich erfolgt die Bildung von Glykuronsäure auch nach der Darreichung von Chloranilsäure $C_6H_2(OH)_2O_2$ (Schulz) und von Gallacetophenon $C_6H_2(OH)_3 . CO . CH_3$ (Rekowski[1]).

Eigenartig verhalten sich das Chlor-, Jod- und das Brombenzol $C_6H_5 . Br$. Diese gehen als Para-Chlor- oder Jod- oder Bromphenol $HO . C_6H_4 . Br$ zunächst in Chlor-, Jod- oder Bromphenylmercaptursäure, Abkömmlinge des Cystins über (§ 30. II. B. 9.) und erst diese Säuren geben eine den gepaarten Glykuronsäuren analoge linksdrehende reducirende durch Bleizucker nicht fällbare Verbindung; das der Glykuronsäure entsprechende Spaltungsprodukt, was sich im Uebrigen wie diese verhält, dreht jedoch, wie die Glykuronsäure aus Uronitrotoluolsäure, nicht rechts, sondern links und giebt mit Barytumhydrat kein schwer lösliches basisches Salz (Baumann). Auch ist auffällig, dass die gepaarte Chlorphenylmercaptursäure bei ihrer Spaltung ihre Acidität verdoppelt (Baumann und Preusse, Jaffé[2]).

Ausser den genannten Substanzen ist noch eine grosse Reihe solcher bekannt, nach deren Zufuhr der Harn links dreht, was zu der allerdings nicht völlig sicheren Annahme bewogen hat, dass auch diese gepaarte Glykuronsäuren liefern könnten. Dies ist der Fall nach E. Külz bei den Phenolen Kresol $CH_3 . C_6H_4 . OH$, Guajacol $CH_3 . O . C_6H_4 . OH$ (auch nach Eschle), Brenzkatechin $C_6H_4(OH)_2$, Orcin $CH_3 . C_6H_3(OH)_2$, den Chlorphenolen $Cl . C_6H_4 . OH$, o- und p-Nitrophenol $NO_2 . C_6H_4 . OH$, bei den Kohlenwasserstoffen Xylol $C_6H_4(CH_3)_2$, Cumol $C_6H_5 . CH(CH_3)_2$, Dichlorbenzol $C_6H_4Cl_2$, ferner beim Amidobenzol (Anilin) $C_6H_5 . NH_2$, Azobenzol $(C_6H_5N)_2$, Hydrazobenzol $(C_6H_5 . NH)_2$, Indol C_8H_7N, nach G. Hoppe-Seyler bei der Orthonitrophenylpropiolsäure, nach Jolles beim Benzosol (Benzoylguajacol), nach F. Müller beim Phenetidin $H_2N . C_6H_4 . O . C_2H_5$ und nach v. Mering auch beim Nitrobenzol $C_6H_5 . NO_2$. Das Anisol $CH_3 . O . C_6H_5$ verhält sich nach Kossel dem Phenetol ähnlich. Nach grossen Dosen Kairin $C_9H_9(C_2H_5)N . OH$ dreht der Harn links und reducirt (v. Mering), ebenso nach Morphin $C_{17}H_{12}NO(OH)_2$ (v. Mering,

---

[1]) E. Külz, Ztschr. f. Biol. **27**. 250. — O. Schulz, Dissert. Rostock 1892; Jahresber. f. Thierch. 1892. 77. — Kossel, Ztschr. f. physiol. Ch. **4**. 296. 1880; **13**. 181. 1888. — M. Jaffé, Ztschr. f. physiol. Ch. **2**. 47. 1878. — Külz, a. a. O. 252. — F. Blum, Deutsche med. Wochenschr. 1891. 186; Ztschr. f. physiol. Ch. **16**. 514. 1892. — M. Nencki, Arch. des sc. biol. **3**. 120. 1894. — Jaffé, u. P. Hilbert, Ztschr. f. physiol. Ch. **12**. 295. 1888. — K. A. H. Mörner, Ztschr. f. physiol. Ch. **13**. 23. 1888. — Rekowski, Therap. Monatshefte, Septbr. 1891; Archiv des sc. biol. **3**. 124.

[2]) Baumann, Ztschr. f. physiol. Ch. **8**. 193. — Baumann u. Preusse, Ztschr. f. physiol. Ch. **3**. 159. 1879; **5**. 309. 1881; Berichte d. chem. Gesellsch. **12**. 806. 1879. — Jaffé, Berichte d. chem. Gesellsch. **12**. 1093. — Schmitz, Ueber p-Jodphenylmercaptursäure. Dissert. Freiburg i. B. 1886. — Baumann u. Schmitz, Ztschr. f. physiol. Ch. **20**. 586.

Sundvik), nach Skatol (Mester) und nach Bittermandelöl (Benzaldehyd) $C_6H_5.COH$ (v. Mering[1]).

Zufuhr von Benzoësäure bewirkt Linksdrehung des Harns und schwache Reduction (Salkowski), die von Salicylsäure gleichfalls Linksdrehung und starke Reduction (Byasson, v. Jaksch). Nach der Zufuhr von Copaivaöl (Quincke), sowie von Bromnaphtalin $C_{10}H_7Br$ (Baumann und Preusse), dreht der Harn links. Die Linksdrehung, welche Lewin nach der Verabreichung von Santonin am Harn wahrnahm, ist nach Jaffé[2]) nicht auf die Bildung einer gepaarten Glykuronsäure zu beziehen, sondern rührt von dem stark linksdrehenden Santogenin her.

D. Der normale Harn besitzt Eigenschaften, nach welchen man das Vorkommen gepaarter Glykuronsäuren in ihm vermuthen kann. Wie Haas zuerst wahrnahm, dreht fast jeder normale Harn die Ebene des polarisirten Lichts nach links, eine Beobachtung, welche von Johannovsky, Galippe und E. Külz[3]) in zahlreichen Untersuchungen bestätigt wurde. Die Drehung ist gering, sie beträgt nach Haas —0,05 bis —0,17°, nach Johannovsky —0,01 bis 0,18°. Der Nachtharn dreht nach Haas weniger stark als der Nachmittagharn.

Nach Külz dreht auch der normale Harn von Kälbern, Kühen, Pferden und Schweinen links und zwar stärker, als der menschliche Harn. Der Harn hungernder Hunde dreht stark links, ohne β-Oxybuttersäure zu enthalten. Beim Kälberharn betrug die Drehung —0,16 bis —0,32°, beim Kuhharn —0,11 bis —0,27°, beim Pferdeharn —0,11 bis —0,21°, beim Schweineharn ebenso viel wie beim Pferdeharn. Eine schwache Linksdrehung nahm Roos[4]) beim Harn von Hund, Kaninchen und Pferd wahr. Auch in pathologischen Harnen kommt linksdrehende Substanz vor; nach E. Külz in vergohrenem diabetischen Harn (in 8 von 52 Fällen) eine durch Bleiessig und Ammoniak fällbare, die also nicht β-Oxybuttersäure sein konnte.

Haas hat von der fraglichen Substanz weiter folgende Eigenschaften ermittelt.

Sie dreht links in saurer, neutraler und alkalischer Lösung. Macht man jedoch den Harn mit Ammoniak oder kohlensaurem Natron stark alkalisch, so wird

---

1) E. Külz, Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1881. 337; Pflüger's Archiv **30**. 518. — Eschle, Ztschr. f. klin. Med. **29**. 197. 1896. — G. Hoppe-Seyler, Ztschr. f. physiol. Ch. **7**. 179 u. 425. — v. Mering, Berichte d. chem. Gesellsch. **15**. 1020. 1882. — A. Kossel, a. a. O. — v. Mering, Ztschr. f. klin. Med. **7**. Suppl. 149. — v. Mering, Berliner klin. Wochenschr. 1874. 246. — E. Sundvik. Jahresber. f. Thierch. 1886. 78. — B. Mester, Ztschr. f. physiol. Ch. **12**. 132. — v. Mering, Ztschr. f. physiol. Ch. **6**. 494.

2) Salkowski, Ztschr. f. physiol. Ch. **4**. 135. 1880. — Byasson, Journ. de thérap. **4**. 721. 1877; Jahresber. f. Thierchemie 1877. 237; Chem. Centralbl. 1879. 21. — v. Jaksch, Klinische Diagnostik. 4. Aufl. 1896. 483. — H. Quincke, Archiv f. exper. Pathol. **17**. 273. — Baumann u. Preusse, Ztschr. f. physiol. Ch. **5**. 340. — L. Lewin, Die Nebenwirkungen der Arzneimittel 1881. 245; Berliner klin. Wochenschr. 12. 1883. — Jaffé, Ztschr. f. klin. Med. Suppl. zu **17**. 7. 1890.

3) H. Haas, Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1876. 149. — Johannovsky, Archiv f. Gynäkologie **12**. 1877. — Galippe, Gazette méd. de Paris 1880. 259; Jahresber. f. Thierch. 1880. 218. — E. Külz, Ztschr. f. Biol. **20**. 166; **23**. 338.

4) E. Külz, a. a. O. **20**. 173. — E. Roos, Ztschr. f. physiol. Ch. **15**. 533. 535. 538. 1891.

die Flüssigkeit optisch inactiv. In den möglicher Weise entstandenen Niederschlägen ist die Substanz nicht enthalten. Säuert man die Lösungen (oder die Filtrate) wieder an, so drehen sie wieder links.

Die Substanz ist nicht flüchtig. Durch Eindampfen des Harns steigt die Stärke der Drehung mit der Concentration; das Destillat ist dagegen optisch inactiv. Alkohol entzieht dem zu Syrupconsistenz eingedampften Harn die drehende Substanz. Thierkohle nimmt (aus dem eingedampften Harn) einen Theil der drehenden Substanz auf, giebt sie aber darauf an destillirtes Wasser nur unvollständig wieder ab. Bleizucker und Bleiessig fällen den Körper nicht, wohl aber Bleiessig und Ammoniak. Ebenso vollständig wird die Substanz aus der bleihaltigen Lösung mit Bleisulfat durch Schwefelsäure gefällt. Zerlegt man die Bleiniederschläge durch Schwefelwasserstoff, so geht die drehende Substanz nicht in Lösung; siedendes Wasser, aber noch leichter Alkohol, nimmt aus dem Schwefelblei eine Substanz auf, welche nun rechts dreht. Die aus dem Schwefelblei gewonnenen Lösungen lösen nach Zusatz von Natronlauge viel Kupferhydrat, ohne es in der Wärme zu reduciren; mit Salpetersäure und Natronlauge färben sie sich braungelb. — Galippe fügt diesen Beobachtungen noch hinzu, dass Quecksilberacetat die Linksdrehung des normalen Harns nicht vollständig beseitigt.

Die Pflanzenfresserharne verhalten sich nach E. Külz einigermaassen anders als die menschlichen, insofern als zwar durch Bleizucker die Linksdrehung nicht beeinträchtigt wird, wohl aber das Fällen mit Bleiessig nur noch eine geringe optische Activität zurücklässt, welche durch nachträglichen Zusatz von Ammoniak vollends verschwindet. Es handelt sich hier vielleicht auch um mehrere Substanzen (auch Eiweisskörper?).

Diejenigen gepaarten Glykuronsäuren, welche man im normalen Harn zunächst zu vermuthen hat, sind die Phenol-, Parakresol-, Indoxyl- und Skatoxyl-Glykuronsäure, die leider nur mangelhaft, oder, wie die Kresolglykuronsäure, gar nicht bekannt sind.

1. Phenolglykuronsäure. Nach Verfütterung von viel Benzol an einen Hund erhielt Schmiedeberg[1]) aus dem Harn ein Gemeng von verschiedenen Glykuronsäuren, von denen eine stickstofffrei und krystallinisch, die Hauptmasse aber eine syrupartige stickstoffhaltige Säure war, von welcher auch kein krystallisirendes Salz erhalten werden konnte. Beim Kochen der Lösung mit 8—10% einer Mineralsäure wurde Phenol und Glykuronsäure erhalten.

Aus dem Harn von Kaninchen, welchen (40 gr) Phenol beigebracht worden war, stellte Külz[2]) Phenolglykuronsäure dar. Nach dem Trocknen über Chlorcalcium und Schwefelsäure im Vacuum ergab sie bei der Elementaranalyse Zahlen, aus welchen Külz die unmögliche Formel $C_6H_{11}(C_6H_5)O_7$ ableitet. Sie ist entweder $C_6H_9(C_6H_5)O_7$ oder $C_6H_{11}(C_6H_5)O_8$. Die Substanz war stickstoff- und und aschefrei, aber wohl noch nicht rein. Sie bildet lange asbestartige Nadeln, sublimirt schon unter 100°, bräunt sich bei längerem Verweilen auf dieser Temperatur und schmilzt unter Zersetzung bei ungefähr 148°. Ihre Lösung dreht links, das Baryumsalz ist amorph, das Kalium- und das Natriumsalz krystallisiren; das Kaliumsalz löst sich schwer in Alkohol, wird aber aus Alkohol nicht krystallinisch erhalten. Reducirende Eigenschaften besitzt die Säure nicht. Beim Kochen mit Schwefelsäure zersetzt sie sich in Phenol und Glykuronsäure. Sie scheint nicht giftig zu sein und tritt auch im Harn auf, wenn den Thieren neben dem Phenol schwefelsaures Natron oder verdünnte Schwefelsäure beigebracht wird. Die Phenolglykuronsäure scheint leichter zersetzbar zu sein als die Phenolätherschwefelsäure und von ihr würde das Phenol abstammen, welches man manchmal aus Harn ohne Zusatz von Säure destilliren kann. — Zur Darstellung der Säure hat Külz den zum Syrup eingedampften Harn mit einer Mischung von 1 Ltr. Aether, 500 cc

---

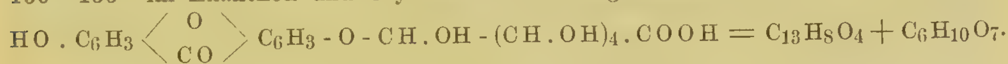
[1]) Schmiedeberg, Arch. f. exper. Pathol. **14**. 307. 1881.
[2]) E. Külz, Pflüger's Archiv **30**. 485; Ztschr. f. Biol. **27**. 248. 1890.

Alkohol und 30 cc halbverdünnter Schwefelsäure geschüttelt und die Extraction mit dem Aetheralkohol so oft wiederholt als noch linksdrehende Substanz in Lösung ging. Der Aetheralkohol wurde abdestillirt, die rückständige Flüssigkeit mit Baryt neutralisirt, das Filtrat erst mit Bleizucker, dann vorsichtig mit Bleiessig gefällt, der Bleiessigniederschlag ausgewaschen und mit Schwefelwasserstoff zerlegt. Das Filtrat wurde zur Krystallisation eingedampft und die Säure unkrystallisirt.

2. Indoxylglykuronsäure. Nach der Verabreichung von Indol dreht der Harn (von Kaninchen) links (E. Külz); ebenso beobachtete G. Hoppe-Seyler Linksdrehung und stärkere Reduction im Harn von Kaninchen, welche Orthonitrophenylpropiolsäure erhalten hatten. Diese linksdrehende Substanz zersetzt sich nach Hoppe-Seyler im Harn viel leichter als die Indoxylschwefelsäure, schon beim Stehen an der Luft durch einen Gährungsprocess, unter Abscheidung reichlicher Mengen von Indigo, der sich nicht auf Kosten der Indoxylschwefelsäure bildet. Von der nach Indolfütterung neben der Indoxylschwefelsäure auftretenden indigbildenden Substanz hat Baumann[1]) ein gleiches Verhalten angegeben. Schmiedeberg hat zuerst die Vermuthung ausgesprochen, dass es sich dabei um Indoxylglykuronsäure handelt. Auf die Gegenwart dieser Säuren im Harn ist dann auch die Ausscheidung von Indigo zu beziehen, welche in manchen Harnen während der alkalischen Harngährung eintritt.

3. Skatoxylglykuronsäure. Der Harn eines Hundes, welchem Mester[2]) Skatol verfüttert hatte, drehte stark links, reducirte alkalische Kupferoxydlösung und enthielt zeitweilig neben dem fraglichen Körper viel Aetherschwefelsäure. Der nach der Entleerung rothgelbe Harn wurde von oben her stärker röthlich und färbte sich bei der Jaffé'schen Indicanprobe schon auf Zusatz concentrirter Salzsäure dunkelroth, beim Erwärmen noch intensiver und endlich violett. Die Darstellung einer Aetherschwefelsäure gelang nicht. Der aus der Verbindung isolirte rothe Farbstoff ist § 7. VI. B. 3. S. 168 beschrieben.

4. Die Euxanthinsäure $C_{19}H_{18}O_{11}$ setzt sich nach den Ermittelungen Graebe's als Magnesium- und Calciumsalz aus dem Harn von Kühen ab, welche (in Indien) mit Mangoblättern gefüttert werden. Der gelbe Niederschlag wird zu Kugeln geformt, und diese kommen getrocknet als Indischgelb, Jaune indien, Puree (Pjuri) in den Handel. Man stellt die Säure nach Graebe in folgender Weise dar. Indischgelb (beste Sorte) wird mit verdünnter Säure gut zerrührt, bis die Masse die hellgelbe Farbe der freien Säure angenommen hat, mit kaltem Wasser ausgewaschen, der noch feuchte Rückstand mit kohlensaurem Ammon behandelt, wobei die Euxanthinsäure unter Hinterlassung beigemengten Euxanthons in Lösung geht, und die Lösung mit Salzsäure gefällt. Die Säure krystallisirt aus Alkohol mit 1 Mol. H_2O in schön gelben Nadeln, löst sich schwer in kaltem, etwas besser in heissem Wasser, leicht in heissem Alkohol, sehr leicht in Aether. Sie enthält zwei durch Metall vertretbare Atome Wasserstoff, verbindet sich nicht mit Phenylhydrazin, Fehling'sche Lösung wird durch sie nicht reducirt. Sie schmilzt unter Zersetzung bei 156—158° (Graebe), 161—162° (Mann und Tollens), und wird nach Thierfelder bei einstündigem Erhitzen mit 100—200 Theilen Wasser auf 120—125° theilweise, nach Mann und Tollens[3]) leichter durch einstündiges Erhitzen mit 10proc. Schwefelsäure auf 130—135° im Exanthon und Glykuronsäure zerlegt nach



$$HO.C_6H_3\left\langle {O \atop CO} \right\rangle C_6H_3\text{-}O\text{-}CH.OH\text{-}(CH.OH)_4.COOH = C_{13}H_8O_4 + C_6H_{10}O_7.$$

E. *Nachweis.* Für die Darstellung und den Nachweis der (gepaarten) Glykuronsäure lassen sich keine auf alle Fälle passenden Vor-

---

[1]) G. Hoppe-Seyler, Ztschr. f. physiol. Ch. 7. 179 u. 425. 1882/83. — Baumann, Ztschr. f. physiol. Ch. 1. 67. 1877.

[2]) B. Mester, Ztschr. f. physiol. Ch. 12. 132. 1888.

[3]) C. Graebe, Ann. d. Ch. 254. 268. 1889. — F. Mann und B. Tollens, Ann. d. Ch. 290. 155. 1896. — Thierfelder, Ztschr. f. physiol. Ch. 11. 391.

schriften geben. Man wird sie nur in einem Harn suchen, welcher stark links dreht, und benützt die Linksdrehung als Leitfaden für das Verfahren.

Man kann so verfahren, dass man den Harn entweder direct oder einen alkoholischen Auszug desselben nach Entfernung des Alkohols erst mit Bleizucker und darauf mit Bleiessig und, wenn nöthig, auch mit Bleiessig und Ammoniak fällt. Der Bleiniederschlag, in welchen die linksdrehende Substanz eingegangen ist, wird nach dem Auswaschen mit Schwefelwasserstoff zerlegt und das Filtrat zur Krystallisation verdunstet. Findet sich keine linksdrehende Substanz im Filtrate, so ist die Säure durch andere Lösungsmittel (Alkohol, Aether, Ammoniak) dem Schwefelblei zu entziehen. Schmiedeberg hat bei der Darstellung der Camphoglykuronsäure auch mit gutem Erfolg die Säure durch Behandeln mit überschüssigem Baryumhydrat in der Wärme in das unlösliche basische Barytsalz übergeführt.

Die gepaarte Glykuronsäure kann durch Kochen mit verdünnter Schwefelsäure oder durch kurzes Erhitzen mit dieser auf eine höhere Temperatur in ihre Bestandtheile zerlegt werden. Die Schwefelsäure wird mit Baryumhydrat entfernt. Ist der Paarling in der Schwefelsäure unlöslich, so bleibt er gleich anfangs zurück; löst er sich in der Säure, aber nicht in Wasser, so findet er sich in dem Niederschlag vom schwefelsaurem Baryt und ist diesem durch Lösungsmittel zu entziehen. Befindet sich der Paarling neben der Glykuronsäure in Lösung, so lässt sich die Säure durch Kochen mit Wasser in das Glykuron überführen; falls sich beide Bestandtheile durch Krystallisation nicht trennen lassen, so kann man versuchen, den Paarling in Aether oder in Alkohol zu lösen; oder man fällt die Glykuronsäure als basisches Barytsalz.

Die Glykuronsäure wird erkannt an ihrem Reductionsvermögen, ihrer optischen Activität, ihrer Gährungsunfähigkeit und ihren sauren Eigenschaften.

§. 15. Oxalsäure.


$C_2H_2O_4$.


$(CO . OH)_2$.

A. *Vorkommen.* Die Oxalsäure kommt sehr häufig, vielleicht immer, im Harn Gesunder in kleinen Mengen vor (bis zu 0,02 g in 24 Stunden, P. Fürbringer). Unter pathologischen Verhältnissen scheint sie nur bei der Zuckerharnruhr und bei Icterus in vermehrter Menge aufzutreten.

Hunde scheiden bei Behinderung der Sauerstoffaufnahme nach Reale und Boeri erheblich mehr Oxalsäure aus, als unter normalen Verhältnissen befindliche. Sie tritt nach v. Terray vermehrt im Harn auf, wenn die geathmete Luft weniger als die Hälfte der normalen Menge Sauerstoff enthält. — Genossene Oxalsäure geht nach Gaglio und nach Pohl[1]) unverändert in den Harn über.

Harnsäure zersetzt sich mit Bierhefe (den in ihr enthaltenen Spaltpilzen?) nach Ranke[2]) bei 32° unter Bildung von Oxalsäure.

---

1) Reale und Boeri, Wiener med. Wochenschr. **38**. 1893; Rivista clin. e terap. Mai 1894; Jahresb. f. Thierch. 1893. 409; 1894. 465. — P. v. Terray, Pflüger's Arch. **65**. 393. 1896. — G. Gaglio, Arch. f. exper. Pathol. **22**. 246. 1887. — Pohl, daselbst. **37**. 415. 1896.

2) H. Ranke, Journ. f. prakt. Ch. **56**. 15. 1852.

B. *Eigenschaften.* 1. Die Oxalsäure krystallisirt mit $2\,H_2O$ in farblosen rhombischen Prismen, löst sich leicht in Wasser und in Alkohol und sublimirt beim Erhitzen zum Theil unzersetzt; ihr Dampf reizt zum Husten.

2. In gewöhnlicher Temperatur wird die Oxalsäure nur langsam durch Permanganat oxydirt (Baeyer), bei 25—40° aber sofort (Hempel).

3. Das in analytischer Beziehung wichtigste Salz der Oxalsäure ist das Kalksalz. Dasselbe krystallisirt mit verschiedenem Wassergehalt in zwei verschiedenen Krystallsystemen, nämlich als C_2CaO_4, H_2O im monoklinischen System (Plättchen), und als C_2CaO_4, $3\,H_2O$ im tetragonalen System (Oktaëder etc.). Die monoklinischen Krystalle entstehen vorzugsweise, wenn sich das Salz schnell aus concentrirten Lösungen ausscheidet, dieselbe Zusammensetzung besitzen die (anscheinend) amorphen Niederschläge von oxalsaurem Kalk; tetragonale Krystalle (Oktaëder, seltener quadratische Prismen mit pyramidalen Endflächen) dagegen entstehen vorzugsweise bei langsamer Bildung des Salzes aus verdünnten sauren Lösungen.

Der oxalsaure Kalk löst sich nicht in Wasser, äusserst wenig in Essigsäure (nach Nickel 3 mg in 50 cc 12 proc. Essigsäure) und anderen organischen Säuren, leicht aber in Salzsäure und in Salpetersäure; vom zweifach sauren Phosphat wird er in Lösung erhalten (Moddermann[1]). Wie andere oxalsaure Salze verwandelt er sich beim Glühen, aber ohne sich zu schwärzen, in kohlensaures Salz.

Amorph scheidet sich der oxalsaure Kalk ab, wenn man concentrirte Lösungen eines oxalsauren Salzes und eines Kalksalzes zusammenmischt, deutlich krystallisirt oder wenigstens krystallinisch, wenn die Lösungen langsam zu einander treten (durch Diffusion); die Krystalle erscheinen dann nadel- und stäbchenförmig, sanduhr- oder hantelförmig oder in rhombischen Täfelchen, neben deutlich ausgebildeten, stark lichtbrechenden Oktaëdern, selten quadratischen Säulen mit pyramidalen Endflächen und anderen dem tetragonalen System angehörigen Formen. In Oktaëdern erhält man den oxalsauren Kalk leicht, wenn man eine sehr verdünnte Lösung von oxalsaurem Kalk in Salzsäure in der Wärme erst mit Ammoniak, dann mit Essigsäure übersättigt und warm erhält, oder nach Neubauer, wenn man eine solche Lösung mit Ammoniak überschichtet sich selbst überlässt. — In den beschriebenen Formen scheidet sich auch der oxalsaure Kalk aus dem Harn aus (vergl. Sedimente).

C. *Nachweis.* Aus dem Harn setzt sich öfter oxalsaurer Kalk spontan ab. Mit Bestimmtheit darf die Gegenwart von Oxalsäure in dem Harn aber nur dann angenommen worden, wenn Octaëder vorhanden sind oder wenn sich das Sediment bei der mikrochemischen Untersuchung, vor Allem durch seine Unlöslichkeit in Essigsäure und seine Löslichkeit in Salzsäure, als oxalsaurer Kalk erweist. — Die Abwesenheit von oxalsaurem Kalk in einem Harnsediment ist dagegen kein Beweis dafür,

---

[1]) O. Nickel, Ztschr. f. physiol. Ch. **11**. 199. 1887. — R. S. Tjaden Moddermann, Nederl. Tijdschr. voor Geneesk. 1864; Schmidt's Jahrbb. **104**. 31.

dass der Harn keine Oxalsäure enthält. Es kann ein Harn reich an Oxalsäure sein, ohne dass er oxalsauren Kalk ausfallen lässt. In solchen Fällen kann die Oxalsäure nach folgenden Methoden nachgewiesen werden.

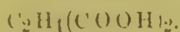
a. Der Harn wird mit Natronlauge nahezu neutralisirt und 24 Stunden oder länger ruhig stehen gelassen; hat sich ein Niederschlag gebildet, so wird derselbe mikroskopisch untersucht. Die Methode ist nicht besonders verlässlich.

b. Mit grösserer Sicherheit gelingt der Nachweis der Oxalsäure nach Neubauer[1]) in folgender Weise. Den zu prüfenden Harn (200—400 cc) versetzt man mit Chlorcalciumlösung, übersättigt mit Ammoniak und löst den entstandenen Niederschlag in Essigsäure, wobei man einen Ueberschuss möglichst vermeidet. Man lässt die (nicht filtrirte) Lösung 24 St. stehen und bringt dann den entstandenen Niederschlag, in welchem Harnsäure selten fehlt, auf ein kleines Filter, wäscht mit Wasser und übergiesst ihn darauf mit einigen Tropfen erwärmter Salzsäure. Etwa vorhandenes Kalkoxalat löst sich auf, die Harnsäure bleibt auf dem Filter zurück. Das Filtrat verdünnt man in einem Proberöhrchen mit 15 cc Wasser und überschichtet es mittelst einer Pipette höchst vorsichtig mit sehr verdünntem Ammoniak in genügender Menge, worauf sich das Kalkoxalat im Verlauf mehrerer Stunden in gut ausgebildeten Krystallen absetzt. Bei diesem Verfahren bleibt etwas oxalsaurer Kalk im zweifach sauren Phosphat gelöst.

c. Nach Salkowski[2]) soll man (200 cc) Harn mit Kalkmilch neutralisiren oder ganz schwach alkalisch machen, mit Chlorcalcium ausfällen, die Flüssigkeit über dem Niederschlag eindampfen, und den Rückstand mit Alkohol fällen. Der Niederschlag wird einige Male mit 80 proc. Alkohol und mit kleinen Mengen heissen Wassers gewaschen, in wenig verdünnter Salzsäure gelöst, das Filtrat mit Ammoniak neutralisirt und mit Essigsäure angesäuert. Der oxalsaure Kalk krystallisirt dann in 24 Stunden aus.

§. 16. Bernsteinsäure.


$C_4H_6O_4$.


$C_2H_4(COOH)_2$.

A. *Vorkommen.* Nach Meissner's vielfachen Untersuchungen macht die Bernsteinsäure einen normalen Bestandtheil des Harns der Menschen und der Thiere aus, eine Angabe, welcher von Salkowski widersprochen wird. Pouchet[3]) fand meist kleine Mengen Bernsteinsäure.

B. *Eigenschaften.* 1. Die Bernsteinsäure krystallisirt in farblosen monoklinischen Prismen, schmilzt bei 180° und siedet bei 335° unter Entwickelung der reizenden Dämpfe ihres Anhydrids; zu sublimiren beginnt die Säure schon unter ihrem Schmelzpunkt. Sie löst sich in ungefähr 16 Theilen kaltem, viel leichter in heissem Wasser, leicht auch in heissem Alkohol, aber sehr wenig in Aether; doch wird sie ihren wässrigen Lösungen beim Schütteln mit Aether entzogen.

Bei schneller Krystallisation, z. B. bei Zusatz einer Säure zu festem bernsteinsauren Alkali, scheidet sich die Bernsteinsäure nach Meissner in sechs-

1) Neubauer, Zeitschr. f. analyt. Ch. 8. 521. 1869.
2) Salkowski, Zeitschr. f. physiol. Ch. 10. 120. 1886.
3) Pouchet, Contribution à la conn. des mat. extract. de l'urine. Paris 1880. 23.

seitigen, übereinander geschichteten, oft auf der Kante stehenden Tafeln aus. In anderen Fällen sind die sechsseitigen Tafeln langgestreckt und dann häufig drusenförmig mit einander vereinigt.

2. Die Alkalisalze der Bernsteinsäure sind leicht löslich in Wasser, unlöslich in kaltem Alkohol, die der alkalischen Erden und schweren Metalle in Wasser schwer löslich oder unlöslich.

a. Die bernsteinsauren Salze zersetzen sich, wenn sie in trockenem Zustand mit saurem schwefelsauren Kali erhitzt werden, unter Sublimation des Säureanhydrids.

b. Das Natronsalz der Bernsteinsäure krystallisirt nach Meissner und Jolly[1] in lancett- oder weidenblattförmigen Plättchen oder Nadeln; sie sind zuweilen in der Mitte verdickt, meist sehr lang gestreckt, mit kleineren Nadeln und Nadelbüscheln besonders an den Enden besetzt, zuweilen zu Büscheln oder zu strahligen kugligen Massen vereinigt; die Nadeln erscheinen sehr oft der Länge nach unregelmässig gefurcht oder gespalten.

c. Aus einer Lösung von bernsteinsaurem Salz setzen sich auf Zusatz von Chlorcalcium langsam nadelförmige Krystalle des Salzes $C_4H_4CaO_4$, $3H_2O$ ab; kocht man eine Mischung von bernsteinsaurem Alkali und Chlorcalcium, oder fügt man einer heissen Lösung von bernsteinsaurem Salz Chlorcalcium hinzu, so fallen sofort kurze Nadeln des Salzes $C_4H_4CaO_4$, H_2O als sandiges Pulver aus.

d. Das neutrale Barytsalz fällt nach Doepping sogleich als weisses Krystallpulver auf Zusatz von bernsteinsaurem Natron zu einer concentrirten Chlorbaryumlösung aus; in einer verdünnten Barytsalzlösung entsteht dagegen der Niederschlag erst nach einiger Zeit, schneller beim Kochen oder wenn man in die Flüssigkeit etwas festen bernsteinsauren Baryt einträgt. Nach Schmitt und Hiepe ist die Fällung in der Siedehitze vollständig. Aus einer klaren Mischung von Chlorbaryum, Ammoniak und Weingeist fällt das Salz nach Meissner auf Zusatz der Lösung eines bernsteinsauren Salzes sofort aus. Freie Bernsteinsäure wird dagegen nach Blumenthal durch Baryumnitrat und 3—4 Vol. 90proc. Alkohol nur sehr unvollständig niedergeschlagen. Das Salz ist nach Doepping das wasserfreie normale Salz. Es ist sehr schwer löslich in Wasser, in einer Bernsteinsäurelösung, sowie in Kaliumhydrat, leichter in heisser Essigsäure, leicht in verdünnter Salzsäure oder Salpetersäure, unlöslich in Weingeist und in Ammoniak. Nach Siegfried[2] löst sich Bernsteinsäure leicht in warmem Barytwasser, und erst bei anhaltendem Kochen oder tagelangem Erwärmen auf dem Wasserbad scheidet sich unlöslicher bernsteinsaurer Baryt aus.

e. Die löslichen bernsteinsauren Salze geben mit Eisenchloridlösung rostfarbene flockige oder gallertige Niederschläge von bernsteinsaurem Eisenoxyd, das durch Ammoniak in Eisenoxyd und (lösliches) bernsteinsaures Ammon zerlegt wird.

f. Salpetersaures Silber giebt mit bernsteinsauren Salzen einen weissen pulverförmigen, in Salpetersäure sowie in Ammoniak löslichen Niederschlag.

g. Bernsteinsaures Salz wird durch Bleizucker gefällt, im Ueberschuss aber leicht wieder gelöst; beim Erwärmen und Schütteln dieser Lösung scheidet sich wieder bernsteinsaures Blei als schweres krystallinisches Pulver ab.

C. *Darstellung.* a. Nach Meissner u. Jolly trennt man zunächst die Bernsteinsäure von der Hippursäure nach § 21. C. 2. b., wobei es, zur Verhütung eines Verlustes von Bernsteinsäure, darauf ankommt, dass die eingedampfte Flüssigkeit vor dem Zusatz von Alkohol

---

[1]) G. Meissner u. F. Jolly, Ztschr. f. rat. Med. [3] **24**. 97.

[2]) O. Doepping, Ann. d. Chem. u. Pharm. **47**. 265. 1843. — C. Schmitt und C. Hiepe, Ztschr. f. anal. Ch. **21**. 536. 1882. — F. Blumenthal, Virchow's Archiv. **137**. 539. — M. Siegfried. Ber. d. chem. Gesellsch. **28**. 516. 1895; Ztschr. f. physiol. Ch. **21**. 371.

nicht sauer reagirt, und dass sie mit absolutem Alkohol vollständig ausgefällt wird.

Der Niederschlag wird mit Alkohol gewaschen, gut abgepresst, in Wasser gelöst und die Lösung auf dem Wasserbade concentrirt. Fällt beim Erkalten harnsaures Alkali aus, so wird dieses abfiltrirt. Lässt man einen Tropfen dieser Lösung auf dem Objectträger verdunsten, so scheidet sich bernsteinsaures Natron in zwar meist sehr unvollkommenen aber (den B. 2. b. beschriebenen) charakteristischen Formen aus. Ueberlässt man die Lösung bei niederer Temperatur sich selbst, so krystallisirt das bernsteinsaure Natron, meist vor den Chloriden, aus, und kann dann leicht durch Umkrystallisiren rein erhalten werden. Gelingt die Krystallisation nicht oder sind den Krystallen viele Chloride beigemengt, so fällt man die Lösung mit neutralem Eisenchlorid, wäscht den Niederschlag aus, zerlegt ihn unter Erwärmen mit Ammoniak und lässt das Ammonsalz krystallisiren, oder man neutralisirt die Lösung des Ammonsalzes genau mit Salpetersäure, fällt mit salpetersaurem Silber, wäscht den nicht ganz unlöslichen Niederschlag mit Wasser, zerlegt ihn mit Schwefelwasserstoff und dampft zur Krystallisation ein.

b. Neubauer versetzt die wässrige Lösung des Alkoholniederschlags mit Salzsäure und extrahirt die vorhandene Bernsteinsäure durch Schütteln mit Aether (100—150 cc). Nach dem Abdestilliren des Aethers bleibt eine braune Masse zurück, aus welcher die Bernsteinsäure schwierig krystallisirt. Zur Reinigung wird dieser Rückstand mit Salpetersäure behandelt, von der die Bernsteinsäure nicht angegriffen wird. Man verdünnt zu diesem Zweck das Aetherextract mit Wasser, erhitzt zum Kochen und setzt während des Siedens tropfenweise so lange reine Salpetersäure hinzu, bis die Flüssigkeit nur noch gelb gefärbt ist. Aus der durch Abdampfen concentrirten Lösung krystallisirt die Bernsteinsäure leicht heraus. Man bringt die Krystalle auf Fliesspapier und lässt die Mutterlauge aufsaugen. Nach dieser Methode gelang es, selbst sehr kleine Mengen von Bernsteinsäure, die 800—1000 cc normalem Harn zugesetzt waren, wiederzufinden.

c. Salkowski[1]) zieht es vor, die Bernsteinsäure aus dem Harn direct mit Aether zu extrahiren. Zu diesem Zweck fällt er den Harn mit Baryt aus, entfernt den Ueberschuss des Baryts mit Schwefelsäure und dampft ein. Die concentrirte Lösung wird sodann mit Schwefelsäure stark angesäuert und mit Aether mehrmals ausgeschüttelt.

D. *Nachweis.* a. Die reine Säure wird für sich oder das Natronsalz nach dem Verreiben mit saurem schwefelsauren Kali in einem Reagensglas erhitzt; die Bernsteinsäure sublimirt dabei in weissen, zum Husten reizenden Dämpfen.

b. Man löst das bernsteinsaure Salz in Wasser, wenn man die Bernsteinsäure als Salz erhalten hat, oder kocht die Lösung der freien Säure mit kohlensaurer Magnesia und filtrirt. Die Lösung prüft man nach B. 2. c. g u. (mit weingeistiger Barytlösung) d, wenn die Substanz reicht, auch nach e u. f, wobei man nach C. a. das Silbersalz aus dem Eisensalz darstellen kann.

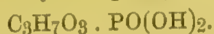
c. Die Krystallform der Bernsteinsäure oder ihres Natronsalzes sollten nicht allein zum Nachweis der Bernsteinsäure benutzt werden: wenigstens kann die Krystallform des Gypses leicht zu Verwechslungen mit Bernsteinsäure führen (Meissner u. Shepard[2]).

---

[1]) Salkowski, Pflüger's Archiv 4. 95.

[2]) G. Meissner u. C. U. Shepard, Untersuchungen über die Entstehung der Hippursäure etc. Hannover 1866. 108.

§ 17. Glycerinphosphorsäure.



$C_3H_7O_3 . PO(OH)_2$.

A. *Vorkommen.* An organische Sustanz gebundene Phosphorsäure ist wiederholt im Harn aufgefunden worden, zuerst von Ronalds, später von Klüpfel und von Th. Fehling. Sotnitschewsky wies daneben Glycerin nach. Robin ist der Meinung, dass die Glycerinphosphorsäure nicht als solche, sondern als Lecithin im Harn enthalten sei und aus diesem erst während der Verarbeitung des Harns entstehe, doch fand Mörner bei seinen zahlreichen Untersuchungen nur einmal eine phosphorhaltige Substanz, die nach ihren Löslichkeitsverhältnissen Lecithin sein konnte. Wenigstens ein Theil der an Organisches gebundenen Phosphorsäure ist als Nucleïnsäure zugegen. (Vergl. § 43. IV.) Nach Fütterung mit Gehirn fand Politis keine gepaarte Phosphorsäure im Harn des Hundes, ebensowenig Gumlich nach Verfütterung von viel eiweissfreier Nucleïnsäure.

Pasqualis konnte überhaupt keine organische Phosphorsäure im Harn auffinden. Verabreichtes Salol lieferte Bülow[1]) keine aromatische Aetherphosphorsäure; glycerinphosphorsaurer Kalk ging vom Darm oder der Haut aus nach Bülow nur in geringen Mengen, nach Pasqualis gar nicht oder nur spurenweise in den Harn über.

Quantitative Bestimmungen hat Lépine mit Eymonnet und Aubert[2]) ausgeführt. Nach ihren letzten Angaben beträgt die organische Phosphorsäure ungefähr 1 % der anorganischen; 5—10 mal so viel wurde gefunden bei Phthisis mit Fettleber, vermehrt war sie auch bei einer Apoplexie (4,1 % der gesammten Phosphorsäure), bei Epilepsie nach dem Anfall (2,3 %), bei Hysteroepilepsie (1,8 %), Delirium tremens (1,4 %), in manchen Fällen von Icterus, Typhus und Pneumonie, nicht bei Scharlach und Masern; bei Meningitis wurde sie vermehrt oder vermindert gefunden. In der Tagesmenge Harn (1700 cc) eines mit Fleisch gefütterten Hundes fand Bülow 6,2 mg nicht als Tripelphosphat gefällte Phosphorsäure (H_3PO_4).

B. *Eigenschaften.* 1. Die freie Säure ist syrupös und unbeständig; sie zerlegt sich beim Erwärmen, namentlich in concentrirter wässriger Lösung, in ihre Bestandtheile.

2. Zweibasisch. Die Salze sind grösstentheils in Wasser löslich, aber unlöslich oder schwer löslich in Alkohol. Das neutrale Calciumsalz löst sich reichlicher in kaltem als in kochendem Wasser und scheidet sich beim Erwärmen seiner concentrirten Lösung in schneeweissen glänzenden Plättchen ab (Pelouze). Das saure Zinksalz krystallisirt (Schulze und Lakiernik[3]). Essigsaures Blei fällt die Lösungen glycerinphosphorsaurer Salze.

C. *Nachweis.* Sotnitschewsky fällte 10 l Harn mit Kalkmilch und Chlorcalcium aus, dampfte das Filtrat ein, zog den Rückstand mit Alkohol aus, löste das ungelöst Bleibende in wenig Wasser, machte mit Ammoniak alkalisch, und versetzte mit Magnesiamischung. Nach einiger Zeit wurde filtrirt, das Filtrat mit Schwefelsäure stark angesäuert, eine Zeit lang gekocht und die Flüssigkeit wieder

---

[1]) Ronalds, Philos. Mag. [3] **30**. 253; Jahresber. d. Chemie 1847/48. 924. — Sotnitschewsky, Ztschr. f. physiol. Ch. **4**. 214. 1880. — Robin, Archive de Pharmacie **2**. 532; Chem. Centralbl. 1888. 186. — K. A. H. Mörner, Skandin. Archiv **6**. 372. 1895. — Politis, Ztschr. f. Biologie **20**. 200. 1884. — Gumlich, Ztschr. f. physiol Ch. **18**. 508. 1893. — G. Pasqualis, Ann. di chim. e farmac. **20**. Agosto 1894; Jahresb. f. Thierch. 1894. 283. — K. Bülow, Pflüger's Arch. **57**. 89. 1894.

[2]) Lépine und Eymonnet, Comptes rendus de la Soc. de Biol 1882. 622; Communications faites à la Soc. des sc. de Lyon 1883. 16; Lépine, Eymonnet u. Aubert, Comptes rendus de l'Acad. des sc. **98**. 238; Comptes rendus de la Soc. de Biol. 1884. 499.

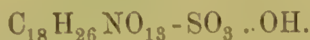
[3]) E. Schulze u. A. Lakiernik, Ber. d. chem. Gesellsch. **24**. 73; Ztschr. f. physiol. Ch. **15**. 412.

mit Ammoniak und Magnesiamischung versetzt. Nach zwei Tagen hatten sich eine Menge Tripelphosphatkrystalle abgesetzt, in welchen durch Prüfung ihrer salpetersauren Lösung mit Molybdän-Salpetersäure Phosphorsäure nachgewiesen wurde. Für den Nachweis des Glycerins wurde die vom Tripelphosphat abfiltrirte Flüssigkeit verwendet. Dasselbe wurde im Wasserbad möglichst concentrirt und der Rückstand mit absolutem Alkohol ausgezogen. Der beim Verdunsten der alkoholischen Lösung bleibende Rückstand entwickelte beim Destilliren mit saurem Kalisulphat Acroleïn, welches am Geruch und an seinem Verhalten gegen salpetersaures Silber erkannt wurde; auch färbte er beim Erhitzen mit Borax am Platindraht die Flamme grün. — Bülow verfuhr in ähnlicher Art.

Der Nachweis der an organische Substanz gebundenen Phosphorsäure beruht hier auf der Voraussetzung, dass sie nicht wie Tripelphosphat gefällt wird, und dass die phosphorsaure Ammon-Magnesia absolut unlöslich sei. — Nach dem Ausfällen der Phosphorsäure mit essigsaurem Uran fand Pasqualis keine oder höchstens zweifelhafte Spuren Phosphorsäure im Harn.

Zur quantitativen Bestimmung verfuhren Lépine u. Eymonnet in folgender Weise. Es wurden 200 cc Harn mit Magnesiamischung ausgefällt, nach 24 Stunden filtrirt, das Filtrat eingedampft, der Rückstand mit Salpeter geschmolzen, die Schmelze mit salpetersäurehaltigem Wasser ausgezogen, die Lösung auf ein kleines Volumen eingedampft und in überschüssige Molybdän-Salpetersäure gegossen. Nach 12 stündiger Digestion bei 40° wurde der Niederschlag auf ein gewogenes Filter gebracht, mit ungefähr 150 cc zehnfach verdünnter Salpetersäure gewaschen, das Filter bei 100° getrocknet, bis es schwach bläulich war und wieder gewogen. Das Gewicht des Niederschlags multiplicirt mit 0,05573 ergab das Gewicht der Glycerinphosphorsäure. Diese Methode kann keine genauen Resultate geben; die im Molybdänsäure-Niederschlag enthaltene Phosphorsäure hätte als Tripelphosphat bestimmt werden müssen. — Bülow wog bei seinen Bestimmungen den (zweiten) Tripelphosphatniederschlag, der nach dem Ausfällen des Harns mit Magnesiamischung und dem Behandeln des Filtrats mit heisser Salzsäure direct erhalten wurde; in diesem Niederschlag war Phosphorsäure durch die Molybdänprobe nachweisbar.

§ 18. Chondroitinschwefelsäure.



A. *Vorkommen.* Nach K. A. H. Mörner[1]) in kleiner Menge constanter Bestandtheil des Harns. Findet sich nach K. A. H. Mörner[2]) auch in der Rinderniere (nach C. Th. Mörner im ächten Knorpelgewebe und der Intima der grossen Arterien, nach Oddi in der Amyloidleber). Die im normalen Harn vorkommende Menge ist grösser, als vom gleichzeitig vorhandenen Eiweiss gebunden werden kann.

Die Säure ist von C. Th. Mörner und namentlich von Schmiedeberg[3]) eingehend untersucht, ihre Beziehung zum Eiweiss und zum Harn von K. A. H. Mörner festgestellt worden.

B. *Eigenschaften.* 1. Amorph, in Wasser leicht löslich, in Lösung und in fester Form dem arabischen Gummi ähnlich, reagirt stark sauer, ist nur aus salzhaltiger Lösung durch Alkohol fällbar, in Eisessig un-

---

1) K. A. H. Mörner, Skandin. Archiv **6**. 378. 1895.
2) Mörner, a. a. O. 398.
3) C. Th. Mörner, Skandin. Archiv **1**. 210. 1889. — O. Schmiedeberg, Arch. f. exper. Pathol. **28**. 355. 1891.

löslich und darum aus wässriger Lösung durch mehrere Volumen Eisessig fällbar. Mineralsäuren schlagen sie aus ihren Salzen nicht nieder, ebensowenig Essigsäure in gewöhnlicher Verdünnung. Pikrinsäure sowie Tannin fällen sie gleichfalls nicht (Mörner).

2. Ihre Lösungen drehen die Ebene des polarisirten Lichts nach links (Mörner).

3. Verbindungen. a. Die Säure giebt mit Metallsalzen neutrale Salze. Nur Zinnoxydul- und Quecksilberoxydulsalz, basisches Bleiacetat, sowie Ferri- und Uransalz nach dem Abstumpfen ihrer sauren Reaction geben mit der Säure Niederschläge, andere Metallsalze nicht. Das (basische) Eisensalz löst sich mit brauner Farbe in Kalilauge und in Ammonsulphat, das Kupfersalz mit rein blauer Farbe (Mörner).

Von der Säure hat Schmiedeberg ein Kupfersalz mit 1 At Cu und Kalisalze mit 1 und 3 At K dargestellt; sie sind amorph, in Wasser löslich. Von den Kupfer und Kalium zugleich enthaltenden basischen Salzen sind die stark basischen kupferreichen in Wasser unlöslich, die weniger basischen kaliumreichen löslich.

b. Mit Eiweiss. α. Die Chondroitinsäure fällt angesäuerte Leimlösung (C. Th. Mörner), sowie Eier- und Serumalbuminlösung (Schmiedeberg). Der Niederschlag aus der Leimlösung ist flockig, löst sich in überschüssiger Mineralsäure, in Kochsalz und in Ferrocyankalium, kann also durch diese Substanzen verhindert werden. Nach K. A. H. Mörner giebt eine mit Essigsäure oder Salzsäure bis zu 0,2 % versetzte Lösung von Chondroitinschwefelsäure (aus Knorpel) mit Pepton keinen Niederschlag, mit Albumosen eine in Kochsalz leicht lösliche milchige Trübung, mit wenig Eiweiss (Eieralbumin, angesäuertem Blutserum) eine milchige Trübung, mit mehr Eiweiss einen flockigen, in Kochsalz unvollständig löslichen Niederschlag. Die Verbindung der Chondroitinschwefelsäure mit Eiweiss kann der Kürze wegen Chondroproteïd oder (insbesondere die mit Albumin) Chondroalbumin genannt werden.

Eine von K. A. H. Mörner mit Chondroitinschwefelsäure aus Harn (mit Essigsäure und Chloroform ausgefälltem dialysirten Harn) und überschüssigem Serumalbumin dargestellte Verbindung bestand nach dem Ergebniss der Elementaranalyse aus 12 Theilen Chondroitinschwefelsäure und 88 Theilen Albumin (gefunden 51,36 % C, 14,32 N, 2,18 Gesammtschwefel, 0,50 S in der Schwefelsäure und 0,04 P; berechnet 51,55 % C, 14,39 N, 2,20 Gesammtschwefel und 0,68 S in der Schwefelsäure.)

Die Eiweissverbindungen sind löslich in Alkalihydrat und in Säure, aber die Löslichkeit in Säure ist etwas verschieden je nach dem Gehalt der Verbindung an Eiweiss und je nach der Verdünnung der Lösung, aus welcher die Verbindung gefällt wurde.

Eine Lösung der Verbindung mit dem Maximum an Eiweiss (aus 1 Thl. Chondroitinschwefelsäure und ungefähr 10 Thln. Eiweiss) in schwachem Ammoniak, gab bei einem Gehalt von 2,33 % organischer Substanz mit wenig Essigsäure einen Niederschlag, welcher bei Zusatz von 1 % Salzsäure oder 12 % Essigsäure noch nicht in Lösung ging; der Niederschlag aus einer 10 fach verdünnten

Lösung löste sich aber bei einem Gehalt der Flüssigkeit an 0,2% Salzsäure und 1% Essigsäure. Aus der 25fach verdünnten Lösung (mit 0,09% organischer Substanz) wurde die Fällung durch 0,2% Essigsäure durch einen Zusatz von 0,1—0,75% Kochsalz nicht verhindert, sondern eher befördert, aber 1—8% Chlornatrium wirkte hindernd. Eine geringe Menge Natriumphosphat war ohne Einfluss auf die Fällbarkeit.

Der Niederschlag der Verbindung mit nur halb so viel Eiweiss aus 0,25 proc. Lösung wurde noch nicht von 1% Salzsäure gelöst. Durch Essigsäure von 0,2—5% wurde die Lösung nicht gefällt, aber auf Zusatz von 0,2—1% Kochsalz und zwar die an Säure reichste am Leichtesten.

Aus der geringeren Löslichkeit der eiweissarmen Verbindung erklärt sich das Verhalten des chondroitinschwefelsauren Eiweisses bei der Pepsinverdauung. Wird nämlich 0,5 proc. Lösung der eiweissreicheren Verbindung in 0,2% Salzsäure der Einwirkung von Pepsin ausgesetzt, so tritt ein flockiger Niederschlag von chondroitinschwefelsaurem Eiweiss auf: die Lösung ist durch die Verdauung eiweissärmer geworden und es scheidet sich dann die an Chondroitinschwefelsäure reichere, in verdünnter Salzsäure unlösliche Verbindung ab.

Schichtet man eine verdünnte Lösung des Chondroalbumins auf concentrirte Salpetersäure (Heller'sche Eiweissprobe), so entsteht an der Grenze beider Flüssigkeiten ein Eiweissring und einige Millimeter darüber ein zweiter Ring.

Durch mehrere Volumen Eisessig wird eine concentrirte Lösung des Chondroalbumins opalescent, eine verdünnte gar nicht verändert.

β. Die Lösung der eiweissreicheren Verbindung wurde durch Eintragen von Kochsalz nicht, durch Eintragen von Magnesiumsulphat nur unvollständig gefällt, fast vollständig aber durch Zusatz von 2 Volumen neutraler gesättigter Ammonsulphatlösung. Die eiweissärmere Verbindung wurde theilweise durch Kochsalz, fast vollständig durch Magnesiumsulphat und durch 2 Vol. der gesättigten Ammonsulphatlösung gefällt.

γ. Ein normaler stark saurer Harn konnte bis zu 0,1% mit Chondroalbumin versetzt werden, ohne dass eine Trübung eintrat. Beim Schichten dieses Harns auf concentrirte Salpetersäure entstanden die zwei getrennt über einander liegenden Ringe wie bei der Probe mit einer wässrigen Chondroalbuminlösung. Der mit 3 Volumen Wasser verdünnte Harn gab aber nur eine sich einige Millimeter in den Harn erstreckende diffuse Trübung. Wenig Essigsäure erzeugte in dem Harn keine Trübung, eine grössere Menge Essigsäure eine schwache; in dem verdünnten Harn rief Essigsäure nur eine schwache Trübung hervor. Nachdem aber aus dem Harn durch Dialyse der grösste Theil der Chloride entfernt worden war, bewirkte Zusatz von Essigsäure bis zu 0,2% binnen Kurzem einen reichlichen Niederschlag.

δ. Die mit Essigsäure bis zu schwacher Opalescenz und schwach saurer Reaction versetzte Lösung der Verbindung in schwachem Ammoniak wird beim Kochen nur etwas stärker opalescent; eine mit dem gleichen Volumen gesättigter Kochsalzlösung versetzte Lösung giebt dagegen beim Kochen einen Niederschlag.

ε. Verdünnte, mit einem geringen Ueberschuss von Salzsäure versetzte Lösungen geben, wie reine Eiweisslösungen, mit Ferrocyankalium, Pikrinsäure nebst Citronensäure (Esbach's Reagens), Jodquecksilberkalium, Sulfosalicylsäure, Metaphosphorsäure flockige Niederschläge, mit Trichloressigsäure eine starke Trübung. Sublimat fällt nicht, nachträglicher Zusatz von Kochsalz erzeugt eine schwache Trübung. — Die essigsaure Lösung wird durch Ferrocyankalium und durch Jodquecksilberkalium gefällt.

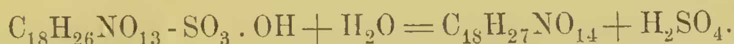
ζ. Das Chondroproteïd giebt die Farbenreactionen des Eiweisses (Violettfärbung mit Salzsäure, Xantho- und Biuretreaction, die Reaction von Millon und von Adamkiewicz).

Das Chondromucoid des Knorpels färbt sich nach C. Th. Mörner mit Methylviolett und Essigsäure blau, mit Anilinroth und Essigsäure roth, mit Eisenchlorid und Ferrocyankalium blau.

η. Alkalische Kupferoxydlösung wird durch Chondroalbumin nur dann reducirt, wenn ein grosser Ueberschuss von Alkalihydrat und Kupferoxyd zugegen ist; die Reduction tritt aber auch dann nur allmählich ein und ist schwach. Bei längerem Erwärmen mit (5 %) Schwefelsäure auf dem Wasserbad liefert die Verbindung aber, wie die Chondroitinschwefelsäure, neben Schwefelsäure die reducirende Substanz.

ϑ. Aus stark alkalischen Lösungen der Eiweissverbindungen (Glutin oder Glutinpepton) werden durch Alkohol oder durch Kupferacetat und Alkohol die entsprechenden Salze der Chondroitinschwefelsäure abgeschieden.

4. Die Chondroitinsäure ist in freiem Zustande unbeständig, sie beginnt in saurer Lösung nach Schmiedeberg wie eine Aetherschwefelsäure schon bei Zimmertemperatur Schwefelsäure abzuspalten. Bei tagelangem Erwärmen mit verdünnter Salzsäure auf 40—50° zerfällt die Chondroitinschwefelsäure in Chondroitin und Schwefelsäure:

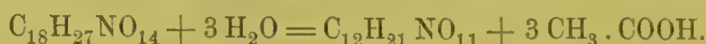


$$C_{18}H_{26}NO_{13}\text{-}SO_3 . OH + H_2O = C_{18}H_{27}NO_{14} + H_2SO_4.$$

Das Chondroitin ist eine einbasische Säure, löst sich langsam aber leicht in Wasser, ist eingetrocknet dem arabischen Gummi ähnlich und hält bei Gegenwart von Alkalihydrat Kupferhydrat in Lösung, ohne dieses beim Erhitzen zu reduciren.

Beim Kochen des Chondroitins mit verdünnter Schwefelsäure oder Salzsäure liefert es unter Braunfärbung, beim Kochen mit 2—3 proc.

Salpetersäure ohne Farbenveränderung und ohne Oxydation als einzige nachweisbare Zersetzungsprodukte Chondrosin und Essigsäure:



$$C_{18}H_{27}NO_{14} + 3\,H_2O = C_{12}H_{21}\,NO_{11} + 3\,CH_3 . COOH.$$

Das Chondrosin ist eine Amidosäure, die nur mit Säuren beständige Verbindungen bildet. Von den Metallsalzen fällt sie nur Bleiessig mit viel Ammoniak, aber auch nur zum Theil. Die Substanz ist gummiähnlich, ihre Lösung färbt sich beim Stehen gelb oder bräunlich. Sie hält bei Gegenwart von Alkali Kupferoxyd und Quecksilberoxyd in Lösung, ohne aus der Kupferoxydlösung, im Gegensatz zum Traubenzucker, bei gewöhnlicher Temperatur, selbst nach längerer Zeit, Kupferoxydul abzuscheiden. In der Wärme tritt die Reduction des Kupferoxyds eben so leicht und schön ein wie mit Traubenzucker. Von 1 Mol. Chondrosin werden 5,5 Mol. Kupferoxyd reducirt, von 1 Mol. Traubenzucker 5 Mol. Kupferoxyd: auf gleiche Gewichte Substanz reducirt das Chondrosin nur halb so stark als Traubenzucker. Das Sulphat dreht die Ebene des polarisirten Lichtes nach rechts, $[\alpha]_D = 36{,}9^0$.

Schon bei der Digestion der Chondroitinschwefelsäure mit verdünnten Säuren in mässiger Wärme entsteht neben dem Chondroitin reducirendes Chondrosin, sogleich, wenn man die Chondroitinschwefelsäurelösung mit der Säure kocht oder längere Zeit auf dem Wasserbade erwärmt. Die Lösung färbt sich nach C. Th. Mörner beim Erwärmen mit überschüssiger Kalilauge wie eine Zuckerlösung goldgelb oder orangegelb und reducirt ausser Kupferoxyd auch Wismuthoxyd.

C. *Nachweis.* Zur Abscheidung der Chondroitinsschwefelsäure aus dem Harn bedient man sich nach K. A. H. Mörner der Eigenschaft derselben, mit Eiweiss in salzarmer, schwach saurer Lösung unlösliche Verbindungen zu bilden. Von den Salzen wird der Harn durch Dialyse befreit. Die im Eiweissharn enthaltene Menge Eiweiss kann ausreichen, alle vorhandene Chondroitinschwefelsäure zu binden, im normalen Harn ist aber der Gehalt an Eiweiss dafür zu gering; es ist daher (vor oder nach der Dialyse) noch ein Zusatz von Eiweiss erforderlich. Ein Liter Harn ist ausreichend.

Man verfährt demnach nach K. A. H. Mörner in folgender Weise. Der normale oder eiweisshaltige Harn wird so lang gegen fliessendes Wasser dialysirt, bis er nur noch geringe Mengen Chloride enthält, die Flüssigkeit, wenn nöthig, filtrirt und bis zu 0,1—0,2 % mit Essigsäure versetzt. Um die Verbindung des Eiweisses mit der Chondroitinschwefelsäure zum Absetzen zu bringen, ist es nöthig, die Flüssigkeit mit Chloroform kräftig zu schütteln. Nach 1—2tägigem Stehen lässt sich dann der Niederschlag abfiltriren, ohne dass der Niederschlag durch das Filter geht. Das Filtrat vom eiweissfreien Harn wird mit wenig Blutserum (1,5 cc auf das Liter) oder einer entsprechenden Menge (0,25 g) Serumalbumin vermischt und der sich bei ruhigem Stehen absetzende Niederschlag gleichfalls auf einem Filter gesammelt.

Für die qualitativen Proben sind diese Niederschläge bereits geeignet, für die Analyse bedürfen sie aber einer Reinigung. Man fällt sie zunächst noch einmal aus schwach ammoniakalischer Lösung mit Essigsäure (und Chloroform), löst wieder in schwachem Ammoniak, setzt 2—3 Vol. Alkohol zu und fällt mit Essigsäure. Endlich wird der Niederschlag mit Alkohol und mit Aether gewaschen und getrocknet. Wiewohl bei dieser Behandlung viel Farbstoff im Alkohol gelöst bleibt, ist der (direct aus dem Harn erhaltene) Niederschlag doch stets braun gefärbt, bisweilen ziemlich stark.

a. Die Niederschläge werden dann in schwachem Ammoniak gelöst und darauf untersucht, ob sie beim Erwärmen mit Salzsäure Schwefelsäure und Chondrosin liefern. Man prüft die Lösung durch Zusatz von wenig Chlorbaryum auf Schwefelsäure, bringt die klar gebliebene oder die trübe gewordene Flüssigkeit nach dem Filtriren auf einen Salzsäuregehalt von 2,5—5 $^0/_0$ und erwärmt einige Stunden auf dem Wasserbad. Die frei gewordene Schwefelsäure hat sich in der braun gewordenen Flüssigkeit als Baryumsulphat abgeschieden. Das Chondrosin giebt sich dadurch zu erkennen, dass die Flüssigkeit nach dem Zusatz von stark alkalischer Fehling'scher Lösung bis zur alkalischen Reaction beim Erwärmen Kupferoxydul abscheidet. Der positive Ausfall der Reductionsprobe allein beweist die Gegenwart der Chondroitinsäure nicht, da sie auch von dem im Harn vorhandenen und in gleicher Weise darstellbaren Mucoid erhalten wird; zur Ergänzung des Beweises ist die Auffindung der Schwefelsäure unerlässlich. Eine Verwechslung mit dem Nucleoalbumin, welches zugleich mit Chondroalbumin ausfällt, ist weniger zu befürchten. Zwar liefert Nucleoalbumin bei der Behandlung mit Mineralsäure auch Kupferoxyd reducirende Substanzen, aber gerade das Nucleoalbumin des Harns scheint hierin eine Ausnahme zu machen.

Das Baryumsulphat kann bei Verwendung von nur wenig Substanz wegen seiner nicht allzu geringen Löslichkeit in der concentrirten Salzsäure übersehen, oder auch durch ausgefallenes Eiweiss verdeckt sein. Es empfiehlt sich daher, wenigstens bei zweifelhaftem Ausfall der Reaction, die Flüssigkeit mit Ammoniak schwach alkalisch zu machen, wodurch das Eiweiss in Lösung gebracht und gelöstes Bariumsulphat abgeschieden wird. K. A. H. Mörner hat den Nachweis der Schwefelsäure dadurch gesichert, dass er den Barytniederschlag auswusch, nach dem Verbrennen des Filters mit Soda und Salpeter schmolz und in der angesäuerten wässrigen Lösung der Schmelze die Schwefelsäure aufsuchte.

b. Die Lösung des Niederschlags in schwachem Ammoniak kann auch mit Salzsäure bis zu 0,2—0,3 $^0/_0$ versetzt und mit Pepsin bei 40^0 digerirt werden. Ein dabei entstehender Niederschlag beweist aber für sich nicht die Gegenwart von Chondroitinschwefelsäure, weil Eiweiss auch in Gegenwart von Nucleinsäure, von Taurocholsäure oder von Metaphosphorsäure bei der Verdauung Niederschläge giebt. Der Niederschlag ist noch besonders nach C. α. zu untersuchen.

c. Wenn die Menge der Substanz ausreicht, ist auch das Verhalten der Lösung des Niederschlags gegen die eiweissfällenden Reagentien (B. 3. b. ε. S. 213) zu ermitteln; sie unterscheiden die Eiweissverbindung der Chondroitinschwefelsäure vom Mucoid (§ 43 V.).

d. K. A. H. Mörner hat ausserdem mit Erfolg noch das Verhalten der Niederschläge in 0,25 proc. Lösung gegen Kochsalz in verschiedener Concentration und gegen andere Neutralsalze (B. 3. b. α. u. β) zur Identificirung der Niederschläge mit dem Chondroalbumin verwendet, und endlich auch solche Niederschläge aus Eiweissharn der Elementaranalyse unterworfen. Nach dem Ergebniss derselben bestand der eine, wie der mit Serumalbumin erhaltene (B. 3. b. γ) aus 12 Thlen Chondroitinschwefelsäure und 88 Thlen Serumalbumin (gefunden 51.36 % C, 14.13 N, 2.34 Gesammt-S, 0,2 P); der andere lieferte 13.49 % N und 0.95 % S in der Schwefelsäure, während sich für eine Verbindung von 16 Theilen Chondroitinschwefelsäure mit 84 Theilen Serumalbumin 13.76 % N und 0,95 % Schwefel berechnen. Ueber die Zusammensetzung der Niederschläge aus normalem Harn ist bei der Beschreibung der „mucinähnlichen Substanz“ (§ 43. IV.) berichtet. Auch hat Mörner versucht, aus den aus Harn erhaltenen Eiweissniederschlägen die Chondroitinschwefelsäure nach dem Verfahren von Schmiedeberg zu isoliren und dabei Substanzen mit den Eigenschaften der freien Säure erhalten. Diese für den von Mörner angestrebten Zweck werthvollen Untersuchungen sind jetzt für den Nachweis der Chondroitinschwefelsäure im Harn entbehrlich.

§ 19. Sulfocyanwasserstoff.
CN.SH.

Syn. Rhodanwasserstoff, Schwefelcyanwasserstoff, Thiocyansäure, Schwefelblausäure.

A. *Vorkommen.* Rhodansalze sind nach Gscheidlen ein Bestandtheil des normalen Harns der Menschen und der Thiere (Hund, Katze, Pferd, Rind, Kaninchen); Külz, I. Munk, sowie Bruylants[1]) haben die Angaben Gscheidlen's bestätigt. Im Liter Menschenharn sind nach Gscheidlen etwa 0,035 g, nach Munk 0,11 g, nach Bruylants nur 0,003 g Sulfocyankalium enthalten, im günstigsten Fall macht der Schwefel des Sulfocyanwasserstoffs ungefähr nur $^1/_3$ des »neutralen Schwefels« aus.

Bruylants fand im Liter Menschenharn Spuren bis 8,2 mg Sulfocyankalium, im Pferdeharn 4.4—7,1, im Rinderharn im Mittel 5,4 mg (2,5—10,5). Alle quantitativen Bestimmungen dürften in Folge des umständlichen Verfahrens zu niedere Werthe ergeben haben. Das Rhodan kommt nach Bruylants nur im Harn von Thieren vor, welche den Stickstoff in Form von Harnstoff ausscheiden, es fehlt bei Vögeln und Reptilien; in 1 kg Schlangenexcrementen traf Bruylants keine Spur davon an. Die Ausscheidung ist unabhängig von der Art der Ernährung. Der Gehalt des Harns an Rhodan ist je nach der Person verschieden, aber die einzelnen Personen weisen trotz verschiedener Ernährung sehr constante Werthe auf. Bei Individuen mit Harngries sinkt der Gehalt des Harns an Rhodan auf $^1/_{20}$ der normalen Menge und der Harn von Gichtkranken weist während des Anfalls keine Spur auf. — Nach der Inhalation von Schwefelkohlenstoff, welcher bekanntlich in alkoholischer Lösung mit Ammoniak Rhodanammon giebt, stieg der Gehalt des Harns von 6,4—7,5 mg Rhodankalium (im Liter) auf 320—384 mg.

---

1) Gscheidlen. Tageblatt der 47. Versammlung der Naturforscher und Aerzte in Breslau 1874. 98; 52. Jahresbericht der schlesischen Gesellsch. f. vaterl. Cultur f. 1874. 207. 1875; Pflüger's Archiv **14**. 401. 1877. — E. Külz, Sitzungsber. d. Gesellsch. z. Beförd. d. gesammten Naturw. in Marburg 1875. 76. — I. Munk, Deutsche med. Wochenschr. 46. 1876; Virchow's Archiv **69**. 354. — J. Bruylants, Bull. de l'Acad de méd. de Belgique [4] **2**. 18; Jahresb. f. Thierch. 1888. 134.

B. *Eigenschaften.* 1. Die Sulfocyansäure bildet eine farblose, in Wasser, Alkohol und in Aether lösliche Flüssigkeit von scharfem, dem der Essigsäure ähnlichen Geruch. Die concentrirte Säure zersetzt sich leicht zu Persulfocyansäure und Blausäure, $3\,CNSH = C_2N_2H_2S_3 + CNH$, die verdünnte (5 proc.) Säure ist viel beständiger.

2. Beim Erwärmen der wässrigen Lösung verflüchtigt sich ein Theil der Säure unzersetzt, während ein anderer Theil unter Wasseraufnahme zu Kohlensäure, Schwefelkohlenstoff und Ammoniak zerfällt:



$$2\,CNSH + 3\,H_2O = (H_4N)_2\,CO_3 + CS_2.$$

3. Die meisten Rhodansalze sind in Wasser und in Alkohol löslich, so die Salze der Alkalien und alkalischen Erden und mehrere Metallsalze. Bemerkenswerth sind folgende Salze:

a. Das Eisenoxydsalz entsteht beim Versetzen eines Rhodansalzes mit einem Eisenoxydsalz. Es ist ausgezeichnet durch seine intensiv blutrothe Farbe, die sich dadurch von der ähnlichen Färbung anderer Eisenoxydsalze (des essigsauren und ameisensauren) unterscheidet, dass sie auf Zusatz von Salzsäure nicht verschwindet; auch geben die Lösungen des Rhodaneisens beim Kochen nicht, wie das essigsaure und ameisensaure Eisenoxyd, einen Niederschlag von basischem Salz. Die Färbung beruht nach Krüss und Moraht[1]) auf der Bildung eines Doppelsalzes $Fe(CNS)_3$, 9KCNS, und die Färbung der Lösung ist dann am Stärksten, wenn in der Salzmischung auf 1 At (Ferri-) Eisen wenigstens 12 Mol. Rhodanid enthalten sind. Dieses Doppelsalz wird zersetzt und dem entsprechend die Rothfärbung vermindert durch Wasser, Neutralsalz (Salmiak, Kochsalz), Salzsäure. Es ist ferner bekannt, dass gewisse organische Säuren (Weinsäure, Milchsäure u. a.) die Färbung zum Verschwinden bringen, dass sie aber auf Zusatz von viel Salzsäure meist wieder hervorgerufen werden kann. Dieses Verhalten ist für die colorimetrische oder spectrophotometrische Bestimmung des Rhodans von grösster Bedeutung. Das Ferrirhodanid löst sich ausser in Wasser auch leicht in Alkohol und in Aether und kann der wässrigen Lösung durch Schütteln mit Aether fast vollständig entzogen werden.

b. Eine verdünnte Rhodanidlösung färbt sich selbst noch bei einer Verdünnung von 1:4000 mit einem Kupferoxydsalz smaragdgrün (gelblich grün) (Colasanti[2]) und setzt allmählich einen weissen Niederschlag ab; eine concentrirte Rhodanidlösung färbt sich mit wenig Kupferoxydsalz dunkelbraun und giebt mit mehr Kupfersalz einen Niederschlag von der Farbe des Schwefelkupfers.

c. Durch ein Kupferoxydulsalz (eine heisse Lösung von Kupfervitriol und saurem Sulphit) wird das Rhodan quantitativ gefällt. Der Niederschlag ist weiss, nimmt aber durch Beimengung von schwefligsaurem Kupferoxyduloxyd leicht eine röthliche Farbe an.

d. Sulfocyansilber. Die Sulfocyansalze geben mit salpetersaurem Silber einen weissen, dem Chlorsilber ähnlichen Niederschlag, der sich im Licht nicht so leicht schwärzt, wie das Chlorsilber, sich wie das Chlorsilber nicht in Salpetersäure, aber in Ammoniak löst; in verdünnten kalten Lösungen von Sulfocyaniden löst sich der Niederschlag nicht.

e. Die Bleisalze. Versetzt man die Lösung eines Sulfocyanmetalls mit einer Lösung von neutralem essigsauren Blei, so setzen sich allmählich, schneller

---

[1]) G. Krüss und H. Moraht, Ber. d. chem. Gesellsch. **22**. 2054. 1889.

[2]) G. Colasanti, Gazz. chim. **18**. 397. 1888; Moleschott's Untersuchungen **14**. 2. Hft.; Jahresb. f. Thierch. 1889. 72; Ber. d. chem. Gesellsch. **22**. Ref. 239.

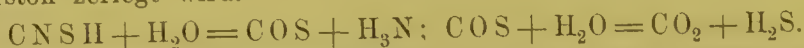
bei starkem Schütteln, glänzende gelbe Krystalle von Sulfocyanblei $(CNS)_2Pb$ ab. Dieselben sind in kaltem Wasser unlöslich, und zersetzen sich beim Kochen mit Wasser. — Auf Zusatz von basisch essigsaurem Blei oder von neutralem essigsauren Blei und Ammoniak geben die löslichen Sulfocyanwasserstoffsalze einen weissen käsigen Niederschlag von basischem Salz $(CNS)_2Pb, Pb(HO)_2$, der beim Trocknen gelblich und pulverig wird, in Wasser völlig unlöslich ist und sich beim Erwärmen mit Salpetersäure heftig unter Bildung von schwefelsaurem Blei zersetzt; in der sauren Flüssigkeit ist nur wenig Blei gelöst enthalten.

4. Mit Schwefelwasserstoff liefert sie Ammoniak und Schwefelkohlenstoff



$$CNSH + H_2S = H_3N + CS_2.$$

5. Beim Erwärmen mit verdünnter Schwefelsäure in grossem Ueberschuss zersetzt sich die Säure (oder ein Salz derselben) zu Ammoniak und Kohlenoxysulphid, das seinerseits in Kohlensäure und Schwefelwasserstoff zerlegt wird.

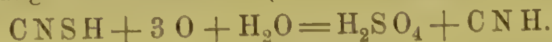


$$CNSH + H_2O = COS + H_3N; \quad COS + H_2O = CO_2 + H_2S.$$

Zweifach saures Phosphat verhält sich wie die Schwefelsäure. Bei Verwendung von organischen Säuren wird zwar das Kohlenoxysulphid entwickelt, das Ammoniak aber (zu Säurenitril oder Säureamid) gebunden.

6. Beim Kochen einer Rhodansalzlösung mit Alkalihydrat oder doppelkohlensaurem Alkali entsteht kohlensaures Ammon, aber keine Blausäure und kein Sulphid.

7. Permanganat in saurer Lösung, sowie salpetrige Säure oxydiren den Rhodanwasserstoff schon in der Kälte, Salpetersäure in der Wärme unter Entwicklung von Blausäure (Erlenmeyer, Volhard[1]) nach



$$CNSH + 3\,O + H_2O = H_2SO_4 + CNH.$$

Salpetersäure liefert neben der Blausäure in der Wärme auch Stickstoffoxyd und Kohlensäure.

Es entwickelt sich daher Blausäure, wenn man eine Flüssigkeit in der man Rhodansalz mit Silbernitrat gefällt hat, mit Salzsäure versetzt.

8. Mit Zink und Salzsäure liefert der Rhodanwasserstoff u. A. Schwefelwasserstoff.

9. a. Eine concentrirte Lösung von Rhodankalium färbt sich mit Salpetersäure oder salpetriger Säure blutroth; die Färbung verschwindet beim Erwärmen oder auf Zusatz von Wasser. — b. Wässrige Rhodanwasserstofflösung erzeugt auf Papier, wenn das Wasser verdunstet ist, einen bald verschwindenden rothen Fleck. — c. Tränkt man nach Böttger[2]) einen Streifen schwedischen Papiers mit Guajaktinktur, lässt ihn trocken werden, zieht ihn dann durch eine 2000 fach verdünnte Kupfervitriollösung und lässt einen Tropfen einer Rhodansalzlösung auf denselben

---

1) Erlenmeyer, Ztschr. f. Ch. 1859. 202. — Volhard, Ann. d. Ch. 190. 60. 1877.

2) Böttger, Ztschr. f. analyt. Ch. 11. 350

fallen, so bläut sich diese Stelle. — d. Eine sehr verdünnte Rhodanidlösung giebt mit einigen Tropfen 20 proc. alkoholischer Naphtollösung und ihrem doppelten Volumen concentrirter Schwefelsäure nach Colasanti[1]) eine starke Violettfärbung.

C. *Nachweis.* Die folgenden unter a—e angeführten Reactionen besitzen nur einen zweifelhaften Werth. Sicherer sind die Methoden (f—h), welche von der Isolirung des Rhodanwasserstoffes ausgehen.

a. Man verdünnt nach Külz Eisenchloridlösung, welcher ein paar Tropfen Salzsäure zugesetzt sind, mit Wasser soweit, bis die Flüssigkeit in gleich dicker Schicht die Farbe des Harns besitzt, den man auf Sulfocyanwasserstoff prüfen will, bringt dann einen Tropfen Harn auf einen Porzellanteller und setzt in die Mitte dieses einen Tropfen der Eisenchloridlösung. Bei Gegenwart von Rhodansalz entsteht nach einiger Zeit ein röthlicher Ring, der namentlich beim Eintrocknen deutlicher wird. Auch viele andere Harnbestandtheile färben sich mit Eisenchlorid roth (§ 13. C. a; S. 192).

b. Man fällt 100 cc Harn mit Barytwasser aus, dampft das Filtrat zur Syrupconsistenz ein, zieht den Rückstand mit Alkohol aus, verdunstet den Alkohol, löst den Rückstand in Wasser, entfärbt die Lösung mit Thierkohle und fügt einige Tropfen verdünnte Eisenchloridlösung zu. Bei Anwesenheit von Sulfocyanid tritt eine blutrothe Färbung ein, welche beim Kochen und bei Zusatz von (eisenfreier) Säure nicht verschwindet (Gscheidlen). (Vergl. § 13. C. a. S. 192). Ebenso kann man die Prüfung auf Rhodanid nach Colasanti mit Kupfersulphat (B. 3. b.) vornehmen.

c. Man bringt in den eiweissfreien Harn einige Stückchen metallisches Zink, fügt Salzsäure hinzu und hält in die Mündung des Gefässes einen mit essigsaurem Blei und Ammoniak benetzten Streifen Filtrirpapier; derselbe schwärzt sich bei Gegenwart von Rhodansalz im Harn. — Die meisten Zinksorten entwickeln mit Salzsäure für sich Schwefelwasserstoff; nur elektrolytisch abgeschiedenes Zink ist sicher schwefelfrei. — Entwickelt der Harn mit schwefelfreiem Zink Schwefelwasserstoff, so ist die Probe nur dann auf Rhodansalz zu beziehen, wenn der Harn weder unterschweflige Säure noch Cystin enthält.

d. Man prüft nach B. 9. c.

e. Harn wird mit Barytwasser ausgefällt, das Filtrat eingedampft und nach dem Ansäuern mit Phosphorsäure der Destillation unterworfen. Im Destillat ist Schwefelwasserstoff und Sulfocyanwasserstoff nachweisbar (Gscheidlen).

f. Es werden nach Munk 200 cc Harn mit Salpetersäure angesäuert, darauf mit salpetersaurem Silber ausgefällt; der Niederschlag wird abfiltrirt, unter Wasser mit Schwefelwasserstoff zerlegt und die Flüssigkeit der Destillation unterworfen. Das Destillat wird mit einer eisenoxydhaltigen Eisenvitriollösung versetzt, mit Kali- oder Natronlauge alkalisch gemacht, sammt dem entstandenen Niederschlag gelinde erwärmt und mit Salzsäure angesäuert. War in dem Silberniederschlag Rhodansilber enthalten, so findet sich in der zuletzt erhaltenen Lösung ein Niederschlag von Berlinerblau vor; sie giebt entweder sogleich blaue Flocken, oder es setzen sich solche aus der grünen Flüssigkeit beim Stehen ab.

---

[1]) Colasanti, Moleschott's Untersuchungen **14**. 4. Hft.,; Jahresb. f. Thierch. 1889. 74. 1891. 44.

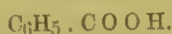
g. Man fällt aus Harn die Rhodanwasserstoffsäure nach G s c h e i d l e n als Bleisalz. Der Harn wird zu diesem Zwecke mit Barythydrat alkalisch gemacht, mit salpetersaurem Baryt ausgefällt, das Filtrat verdunstet, der Rückstand mit Alkohol ausgezogen, die Lösung eingedampft, der dabei gewonnene Rückstand in Wasser gelöst, mit neutralem essigsauren Blei versetzt und sofort filtrirt. Das Filtrat wird dann auf dem Wasserbad erwärmt. War im Harn Rhodansalz vorhanden, so setzt die Flüssigkeit bald ein gelbes krystallinisches Pulver des neutralen Salzes ab. Dasselbe wird mit einer Säure (Phosphorsäure) der Destillation unterworfen; im Destillat sucht man die Säure sowie ihre Zersetzungsprodukte.

h. B r u y l a n t s versetzt den Harn mit einem geringen Ueberschuss von Barythydrat, dampft auf die Hälfte ein, filtrirt, verdunstet das Filtrat zu Syrup und zieht diesen mit 90 proc. Alkohol aus. Zur Entfernung des Harnstoffs wird der Auszug in der Kälte mit gesättigter alkoholischer Oxalsäurelösung ausgefällt, nach einigen Tagen die abgehobene Flüssigkeit zur Entfernung der überschüssigen Oxalsäure mit Kalkhydrat alkalisch gemacht, erwärmt und heiss filtrirt. Der nach dem Abdestilliren des Alkohols bleibende Rückstand wird in Wasser gelöst, mit Thierkohle entfärbt, mit überschüssiger Salzsäure versetzt und wiederholt mit Aether ausgeschüttelt, welcher den Rhodanwasserstoff aufnimmt. Schüttelt man den Aether darauf mit verdünnter Eisenchloridlösung, so nimmt dieser in Folge der Bildung von Ferrirhodanid eine rothe Färbung an.

§ 20. Benzoësäure.



$C_7H_6O_2$.



$C_6H_5 . COOH$.

A. *Vorkommen.* Die Benzoësäure ist von Bedeutung als Muttersubstanz und Zersetzungsprodukt der Hippursäure. Die Benzoësäure ist einige Male im normalen Harn neben Hippursäure gefunden worden; reichlicher tritt sie in demselben nach Genuss von Benzoësäure oder solchen Substanzen auf, welche im Organismus in Benzoësäure verwandelt werden. Gefaulter Harn enthält statt der Hippursäure Benzoësäure (vergl. § 21. B. 4). Beim Fleischfresser entsteht sie nach B a u m a n n normaler Weise ausschliesslich aus der sich bei der Eiweissfäulniss im Darm bildenden Phenylpropionsäure, beim Pflanzenfresser wahrscheinlich auch aus anderen Bestandtheilen der Nahrung. Gewisse (aromatische) Substanzen werden beim Durchgang durch den Körper zu Benzoësäure oxydirt, so das Toluol $C_6H_5 . CH_3$, der Benzylalkohol $C_6H_5 . CH_2 . OH$, das Benzylamin (M o s s o), die Zimmtsäure $C_6H_5 . CH : CH . COOH$, die Paracumarsäure (Hydrozimmtsäure) $C_6H_5 . CH_2 . CH_2 . COOH$, oder zu ihr reducirt, wie die Chinasäure $C_6H_7(OH)_4 . COOH$. Sie wird im Körper in Hippursäure übergeführt. — Metanitrobenzaldehyd wird nach C o h n[1]) im Organismus des Kaninchens, nicht in dem des Hundes, zu

---

1) B a u m a n n, Ztschr. f. physiol. Ch. **10**. 131. 1886. — U. M o s s o, Arch. f. exper. Pathol. **26**. 267. — R. C o h n, Ztschr. f. physiol. Ch. **17**. 284 u. 295; **18**. 133.

m-Acetylamidobenzoësäure, Paranitrobenzaldehyd nur theilweise zu p-Acetylamidobenzoësäure; Metanitrobenzoësäure nimmt dagegen bei Durchgang durch den Körper kein Acetyl auf.

B. *Eigenschaften.* 1. Die sublimirte Benzoësäure erscheint in farblosen glänzenden feinen Nadeln und Plättchen, die aus ihren Salzen durch Säure abgeschiedene dagegen in Schuppen, schmalen Säulen oder sechsseitigen Nadeln, deren Grundform ein gerades rhombisches Prisma ist. Beim Erkalten wässriger Lösungen erscheinen die Krystalle immer als aneinander gereihte, auch wohl über einander liegende Tafeln von genau 90°; in seltenen Fällen findet sich ein Winkel abgestutzt; häufig erscheinen die Ränder wie angenagt (Taf. 1, untere linke Hälfte der Fig. 3).

2. Sie sublimirt bei 100°, schmilzt bei 121,4° und siedet bei 249° unzersetzt, ihre Dämpfe condensiren sich und reizen zum Husten. In kaltem Wasser ist sie schwer (1 Thl in 370 Thln), leichter (in 10facher Menge) in heissem löslich; Alkohol, Aethyläther, Essigäther, Benzol, Chloroform nehmen sie leicht auf, Petroläther aber schlecht; nach Stellwag[1]) löst sie sich in 7 Theilen Aethyläther und in ungefähr 1000 Theilen Petroläther. Ihre Lösungen röthen Lackmus. Sie verflüchtigt sich mit den Wasserdämpfen.

3. Die Benzoësäure ist einbasisch. Ihre Salze sind meistens in Wasser löslich, nur die mit Oxyden schwerer Metalle sind meist schwer löslich. Die benzoësauren Alkalien lösen sich auch in Alkohol. — Säuren fällen aus den Benzoaten die Benzoësäure in glänzenden weissen Schuppen.

4. Eisenchlorid erzeugt in der Lösung der benzoësauren Salze einen bräunlich gelben Niederschlag von benzoësaurem Eisenoxyd, der durch Ammoniak unter Abscheidung von Eisenoxyd in benzoësaures Ammon, durch Salzsäure unter Abscheidung von Benzoësäure in Eisenchlorid zersetzt wird.

5. In einer klaren Mischung von Weingeist, Chlorbaryumlösung und Ammoniak bewirkt weder Benzoësäure noch benzoësaures Salz einen Niederschlag (Unterschied von Bernsteinsäure).

6. Verdampft man Benzoësäure mit etwas Salpetersäure kochend in einer kleinen Schale, so entwickelt sich, sobald man den Rückstand stärker erhitzt, der Geruch nach Bittermandelöl (Nitrobenzol).

7. Beim Kochen mit alkalischer Natriumhypobromitlösung giebt sie im Gegensatz zur Hippursäure keinen kermesfarbenen Niederschlag (Denigès[2]).

C. *Nachweis.* Die Benzoësäure wird aus dem Harn nach denselben Methoden abgeschieden, wie die Hippursäure (§ 21. C. 2); sie findet sich dann entweder allein oder neben dieser vor, und wird von der Hippursäure durch Petroleumäther getrennt, in welchem sich die Benzoësäure löst, die Hippursäure dagegen nicht. Beim Verdunsten des Petroleumäthers bleibt die Benzoësäure krystallinisch zurück. Der Petroleumäther muss frisch destillirt sein, weil die Benzoësäure sonst leicht stark gefärbt erhalten wird (Th. Weyl u. B. v. Anrep). — Um die flüchtige Benzoësäure nicht zu verlieren, lässt man ihre Lösungen bei Zimmertemperatur verdunsten. Ausserordentlich beschleunigt wird die Verdunstung, wenn man nach G. Vulpius den kurzen Schenkel eines Hebers dem Spiegel der Flüssigkeit bis auf 1 cm nähert und den langen Schenkel ansaugt; der kurze Schenkel soll nicht länger sein, als das Gefäss tief ist.

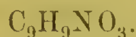
Von etwa gleichzeitig vorhandener Bernsteinsäure trennt man die Benzoësäure dadurch, dass man beide Säuren in ihre Barytsalze verwandelt und diese mit siedendem Alkohol behandelt, in welchem sich das benzoësaure Salz löst. Aus dem Barytsalz lässt sich die Benzoësäure leicht durch Salzsäure abscheiden.

Man erkennt die Benzoësäure an ihrer Krystallform und ihrem Verhalten bei der trockenen Destillation (im Reagensglas), wodurch sie sich von der Hippursäure scharf unterscheidet (B. 1 u. 2). Die Bildung von Nitrobenzol aus derselben (B. 6) dient zur Bestätigung.

---

1) A. Stellwag, Landwirthsch. Versuchsstationen **37.** 136. 1890.
2) G. Denigès, Comptes rendus **107.** 662.

§ 21. Hippursäure.


$C_9H_9NO_3$.


$C_6H_5 . CO - HN . CH_2 . COOH$.

Syn. Benzoylglykokoll, Benzamidoessigsäure.

A. *Vorkommen.* Im Harn gesunder und kranker Menschen kommt die Hippursäure zu 0,1 — 1,0 g in der Tagesmenge vor; viel reichlicher ist sie unter Umständen im Harn der Pflanzenfresser enthalten. Die Menge, in welcher sie auftritt, ist von der Art der Nahrung abhängig.

Auch bei reiner Fleischkost fehlt sie nicht im Harn und beim Fleischfresser ist die Hippursäurebildung nach Baumann ausschliesslich abhängig von der Eiweissfäulniss im Darm. Von Henneberg veranlasste ausgedehnte Fütterungsversuche haben aber ergeben, dass bei Wiederkäuern die Hippursäureausscheidung zur Menge des verdauten Eiweisses in keinem Verhältniss steht. Die Untersuchungen von Meissner und Shepard u. A. lehren vielmehr, dass sich ein Bestandtheil der Rohfaser an der Bildung der Hippursäure betheiligt und Götze und Pfeiffer[1]) haben gezeigt, dass beim Hammel die Beifütterung von Pentose oder einem Gummi die Menge der Hippursäure, entsprechend der Menge des Beifutters, um Etwas erhöht.

Die Hippursäure entsteht aus der Benzoësäure durch Eintritt von Glykokoll in diese. Eine ähnliche Umwandlung erleiden eine Reihe von andern aromatischen Verbindungen: die Nitrobenzoësäure erscheint als Nitrohippursäure im Harn, ebenso der Para- und Meta-Nitrobenzaldehyd beim Hunde, der Metanitrobenzaldehyd beim Kaninchen als m-Acetylamidohippursäure (R. Cohn), die Salicylsäure als Salicylursäure, Furfurol als Pyromykursäure und Furfuracrylursäure, die p-Toluylsäure $CH_3 . C_6H_4 . COOH$ als Tolursäure, die α-Toluylsäure oder Phenylessigsäure $C_6H_5 . CH_2 . COOH$ als Phenacetursäure, α-Thiophensäure als α-Thiophenursäure (Jaffé u. Levy), α-Picolin (1 . 2 Methylpyridin ($C_5H_4N . CH_3$) als α-Pyridinursäure ($C_5H_4N . CO\text{-}HN . CH_2 . COOH$) (R. Cohn[2]).

Bei Hühnern tritt nach Benzoësäurefütterung Ornithursäure auf, eine der Hippursäure analoge Verbindung von 2 Mol. Benzoësäure mit Ornithin (Diamidovaleriansäure) ($(C_6H_5 . CO - HN)_2C_4H_7 . COOH$ (Jaffé). Furfurol tritt als Furfurornithursäure auf (Jaffé u. Cohn). Benzoësäure liefert bei Hühnern auch neben der Ornithursäure keine Hippursäure, aber an sie verfütterte Hippursäure erscheint als solche im Harn wieder (Bongers[3]).

B. *Eigenschaften.* 1. Die Hippursäure bildet milchweisse, halbdurchsichtige, vierseitige Prismen und Säulen, die an den Enden in zwei oder vier Flächen auslaufen und häufig zu Drusen vereinigt sind. Die Grundform ist immer ein verticales rhombisches Prisma (Taf. I, Fig. 3 rechte obere Hälfte). Einzelne Formen haben zuweilen Aehnlichkeit mit den Krystallen der phosphorsauren Ammon-Magnesia, von der die Hippursäure jedoch durch ihr chemisches Verhalten leicht zu unterscheiden ist. Sie ist geruchlos und von schwach bitterlichem Geschmack. Schmelzpunkt 187,5°. Sie löst sich in 600 Theilen Wasser von 0°,

---

1) K. Goetze u. Th. Pfeiffer, Landwirthsch. Versuchsstationen **47**. 80. 1896.

2) R. Cohn, Ztschr. f. physiol. Ch. **17**. 274; **18**. 112 u. 133. — Jaffé u. H. Levy, Ber. d. chem. Gesellsch. **21**. 3458.

3) Jaffé u. R. Cohn, Ber. d. chem. Gesellsch. **21**. 3461. — P. Bongers, Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1889. 238.

viel leichter in heissem (Liebig); bei 60° scheidet sich der grösste Theil der in der Siedehitze gelösten Säure wieder aus (Curtius[1]). Alkohol löst sie leicht, Aethyläther schwerer, Essigäther leichter als gewöhnlicher, kochendes Chloroform sehr schwer (Curtius), Petroleumäther, Benzol, Schwefelkohlenstoff dagegen nicht. Die Lösungen röthen Lackmus stark.

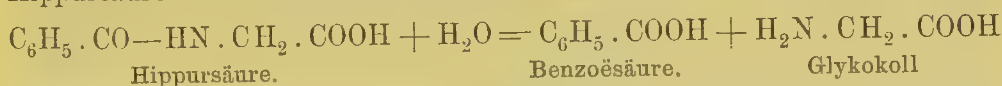
Nach Gonnermann[2]) löst sich 1 g Hippursäure bei ungefähr 18° in 77 cc Essigsäure, 165 cc Wasser, 400 cc Aethyläther, 1 Ltr. Chloroform; sie löst sich ferner in 100 Ltr. kaltem und 10 Ltr. siedendem Benzol.

2. Sie vereinigt sich mit Basen, aber nicht mit Säuren zu Salzen. Ihre Verbindungen mit den Alkalien und alkalischen Erden sind in Wasser und in Alkohol löslich, ihr Silber-, Kupfer- und Bleisalz ist in Wasser schwer löslich, das Eisenoxydsalz ist unlöslich. Säuren scheiden aus den Salzen die Hippursäure wieder in Krystallen ab.

Hippursaure Salze geben mit Eisenoxydsalzen einen isabellfarbenen flockigen, selbst in heissem Wasser unlöslichen, in heissem Alkohol leicht löslichen Niederschlag. — Mit basisch essigsaurem Blei giebt sie einen Niederschlag, wird aber beim Kochen mit Bleihydrat nicht abgeschieden.

Nach Donath[3]) löst sich Hippursäure zu 1 Mol. in Na_2HPO_4, zu 2 Mol. in Na_3PO_4. Aus den stark sauer reagirenden Lösungen krystallisirt beim Verdunsten zuerst Hippursäure, welche sich dem Abdampfungsrückstand solcher Lösungen durch Alkohol entziehen lässt. Aether nimmt aus solchen Lösungen (alle) Hippursäure auf, auch dann noch, wenn die Lösung so viel Na_2HPO_4 enthält, dass sie entschieden alkalisch reagirt.

3. Beim Kochen mit Laugen (aber nicht so leicht beim Kochen mit Kalkmilch), schneller noch beim Kochen mit Mineralsäuren, ferner bei anhaltendem Erhitzen mit Wasser auf 170—180° zerfällt die Hippursäure unter Wasseraufnahme in Benzoësäure und Glykokoll:



$$C_6H_5 . CO—HN . CH_2 . COOH + H_2O = C_6H_5 . COOH + H_2N . CH_2 . COOH$$

Hippursäure. Benzoësäure. Glykokoll

Bei 1 stündigem Erhitzen von Hippursäure mit einer Lösung der Harnsalze auf 180—190° entwickelt sie nach Cazeneuve und Hugounenq[4]) kein Ammoniak.

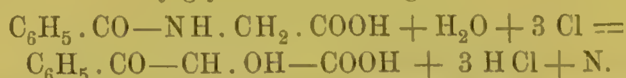
4. Dieselbe Zersetzung erfährt die Hippursäure auch durch den Micrococcus ureae (§ 32. A. 13.) bei der alkalischen Harngährung; nur wird dabei das Glykokoll leicht weiter verändert (van Tieghem[5]).

In alkalischem oder stark eiweisshaltigem Harn zersetzt sich die Hippursäure nach van de Velde und Stokvis[6]) leichter als in saurem.

---

1) Curtius, Journ. f. prakt. Ch. [2] **26**. 149. 1882.
2) M. Gonnermann, Pflüger's Archiv **59**. 44. 1894.
3) Jul. Donath, Journ. f. prakt. Chem. [2] **9**. 173.
4) Cazeneuve u. Hugounenq, Bull. de la Soc. chim. [2] **48**. 82. 1887.
5) van Tieghem, Ann. scient. de l'école normale supérieure I. 4. 209. 1864; Ann. des sc. natur. [5] **2**. 168. 1864; Comptes rendus **58**. 210. 1864.
6) Van de Velde u. Stokvis, Arch. f. exper. Pathol. **17**. 200. 1883.

5. In alkalischer Lösung wird sie nach Gössmann durch Chlor in kurzer Zeit in Benzoylglykolsäure übergeführt:



$$C_6H_5 . CO—NH . CH_2 . COOH + H_2O + 3 Cl = C_6H_5 . CO—CH . OH—COOH + 3 HCl + N.$$

Die freie Hippursäure wird dagegen selbst in siedender wässriger Lösung von Chlor nicht verändert (Curtius).

6. Mit Bromlauge entwickelt sie keinen Stickstoff (Knop und Wolf, Hüfner, Esbach). Dagegen giebt sie nach Denigès[1]) beim Kochen mit dem Reagens einen kermesfarbenen Niederschlag: Benzoësäure giebt ihn aber nicht.

7. Lässt man starke Salpetersäure in der Siedehitze auf Hippursäure einwirken, dampft zur Trockne ab, bringt den Rückstand in ein Glasröhrchen und erhitzt, so entwickelt sich ein intensiver, bittermandelähnlicher Geruch von Nitrobenzol. Da selbst noch Spuren von Nitrobenzol ziemlich anhaltend einen starken Geruch verbreiten, so ist diese Reaction zur Entdeckung selbst sehr kleiner Mengen von Hippursäure anwendbar (Lücke[2]).

Dasselbe Resultat giebt die Benzoësäure; bei der Zimmtsäure verdeckt der specifische Zimmtgeruch jeden andern. Albumin, Leim, Harnsäure, Harnzucker, Salicin, Salicylursäure, Choloidinsäure, Anissäure, Pyrogallussäure, Chinasäure, Pikrinsäure, Naphtalin, Phtalsäure, Indigo, Isatin geben diese Reaction nicht.

8. Bei der Behandlung mit salpetriger Säure entwickelt die Hippursäure nur Spuren Stickstoff (Heinrich), auch in der Wärme nicht mehr, wenn die Säure nicht vorher zu Glykokoll und Benzoësäure zersetzt ist (Kreusler[3]).

9. Bei schwachem Erhitzen im Reagensglas schmilzt die Hippursäure zu einer öligen Flüssigkeit, die beim Erkalten wieder krystallinisch erstarrt; bei stärkerem Erhitzen färbt sich die geschmolzene Masse roth, zieht sich an der Wand des Glases in die Höhe, giebt ein Sublimat von Benzoësäure und entwickelt zugleich anfangs einen angenehmen Heugeruch, später den nach Blausäure.

C. *Darstellung.* 1. Im Grossen. Man verwendet am zweckmässigsten Harn von Pferden, Kühen, Schafen, die mit Gras oder Wiesenheu gefüttert worden sind. Der Harn muss in reinen Gefässen aufgefangen und in möglichst frischem Zustand verarbeitet oder unmittelbar nach der Entleerung sterilisirt werden. Die Darstellung bietet nur in sofern Schwierigkeiten, als es nicht leicht ist, die Hippursäure farblos zu erhalten: auf diesen Punkt sind alle Bestrebungen gerichtet.

1) Knop u. Wolf, Chem. Centralbl. 1860. 258. — Hüfner, Journ. f. prakt. Ch. [2] **3**. 18. 1871. — Esbach, Gazette méd. de Paris 24. 1873. — G. Denigès, Comptes rendus **107**. 662.

2) Lücke, Archiv f. pathol. Anat. **19**. 196. 1860.

3) F. Heinrich, Sachsse's Phytochem. Unters. **1**. 101. — U. Kreusler, Landwirthsch. Versuchsst. **31**. 310. 1885.

a. Man kocht nach Gregory Pferdeharn mit Kalkmilch auf, colirt, dampft schnell auf $^1/_6$ oder $^1/_8$ ein und übersättigt mit Salzsäure, sammelt die nach 24 Stunden auskrystallisirte, noch röthliche Hippursäure, kocht sie nochmals mit Kalkmilch, filtrirt und fällt wieder mit Salzsäure. — Nach H. Schwarz dampft man den Harn auf $^1/_6$—$^1/_8$ ein, versetzt ihn mit Salzsäure im Ueberschuss, löst den Niederschlag in heisser Kalkmilch, fällt in der Wärme mit kohlensaurem Alkali, das Filtrat mit Chlorcalcium, filtrirt wieder und schlägt die Hippursäure mit Salzsäure nieder. Man löst die Hippursäure wieder in überschüssiger Kalkmilch in der Wärme, behandelt die Lösung mit Kohlensäure, wobei ein stark gefärbter Niederschlag entsteht, und fällt das Filtrat mit Salzsäure. — Hansen[1]) löst die rohe Säure kochend in Kalkmilch und Wasser und fällt die alkalische Lösung in der Wärme mit concentrirter Ammoncarbonatlösung und mit Chlorcalcium. Aus dem abgekühlten Filtrat wird die Hippursäure mit Salzsäure niedergeschlagen. Diese Reinigung wird, wenn nöthig, wiederholt. Auch kann man die rohe Säure vorher mit Permanganat theilweise entfärben. (In den Mutterlaugen bleibt viel Hippursäure zurück.)

b. Bensch[2]) versetzt die heisse Lösung der rohen Hippursäure in Kalkmilch mit so viel Alaunlösung, bis die Flüssigkeit nicht mehr alkalisch reagirt, lässt auf 40° erkalten, fällt mit kohlensaurem Natron aus und das Filtrat mit Salzsäure; die abgeschiedene Hippursäure wird dann in wässriger Lösung noch mit Thierkohle entfärbt. — Schnell und sicher führt folgendes Verfahren zum Ziele. Die rohe Hippursäure wird in heissem Wasser gelöst, mit Alaun und dann so viel kohlensaurem Natron versetzt, dass ein reichlicher Niederschlag entsteht, die Flüssigkeit aber noch sauer reagirt. Das Filtrat wird zur Krystallisation verdunstet und, wenn nöthig, noch mit Salzsäure versetzt. Der Farbstoff, welcher den Krystallen noch anhaftet, lässt sich leicht durch bloses Umkrystallisiren oder durch Thierkohle entfernen (Huppert).

c. Löwe löst in der heissen, mit Salzsäure versetzten Lösung etwas Zink auf und fügt der Flüssigkeit zuletzt etwas Kohle zu. Die Krystalle dunkeln am Licht wieder nach (Conrad[3]). Oder er löst die Hippursäure in kohlensaurem Natron und kocht mit Zinkvitriol und Thierkohle; die entfärbte Flüssigkeit wird mit Salzsäure gefällt.

d. Zinnoxydul reducirt in alkalischer Hippursäurelösung den Farbstoff und fällt ihn zugleich. Salzsäure fällt darauf weisse Hippursäure (Conrad[3]).

e. Zur Entfärbung der (freien) Hippursäure sind auch Oxydationsmittel vorgeschlagen worden: übermangansaures Kali (Gössmann), Chlorkalk (Liebig), Chlor (Dauber, Cazeneuve), Salzsäure und chlorsaures Kali (Rieckher), kalte Salpetersäure (Hutstein, Conrad). Das Verfahren von Gössmann ist gut, nur geht dabei neben dem Kali auch Manganoxydul in Lösung, die durch Salzsäure entfernt werden können. Die Behandlung von Chlor wird von Curtius[4]) empfohlen. Man verfährt dabei so, dass man in die siedende wässrige Lösung der Säure Chlor leitet, bis die Lösung nur noch pomeranzenroth ist, die Lösung abkühlt, die Mutterlauge schnell von den Krystallen trennt und diese ein paar Mal mit kaltem Wasser wäscht. Man löst die Krystalle wieder und entfärbt mit Chlor, bis die Lösung hellgelb ist. Den Rest des Farbstoffs kann man durch Umkrystallisiren mit Thierkohle beseitigen.

f. Von beigemengter Benzoësäure, die sich schon an dem Auftreten einer milchigen Trübung bei der Abscheidung der Säure kenntlich macht, lässt sich die Hippursäure befreien, menn man sie mit Wasser übergiesst, und die Mischung mit Petroleumäther schüttelt.

---

1) Gregory, Ann. d. Chem. u. Pharm. **63**. 125. 1847. — H. Schwarz, Ann. d. Chem. u. Pharm. **54**. 29. 1845. — G. Hansen, Jahresber. f. Thierchem. 1881. 116.

2) Bensch, Ann. d. Chem. u. Pharm. **58**. 267. 1846.

3) Löwe, Journ. f. prakt. Ch. **65**. 372. — W. Conrad, Journ. f. prakt. Ch. [2] **15**. 243. 1877.

4) Curtius a. a. O.

2. Im Kleinen. Man nimmt so viel Harn in Arbeit, dass man auf ungefähr 0,5 g Hippursäure an Ausbeute rechnen kann, von gewöhnlichem Menschenharn 1 Liter oder die ganze Tagesmenge. Diabetischen Harn lässt man vorher mit Hefe vergähren, was nach Cazeneuve keinen Verlust an Hippursäure zur Folge haben soll, stark eiweisshaltigen Harn befreit man vorher nach § 43. I. D. 1. vom Eiweiss.

a. Verfahren von Bunge und Schmiedeberg[1]). Der Harn wird, wenn er sauer ist, mit kohlensaurem Natron alkalisch gemacht, das Filtrat fast zur Trockne verdunstet und der Rückstand wiederholt mit kaltem Alkohol ausgezogen. Von der Lösung wird der Alkohol vollständig abdestillirt, die rückständige wässrige Flüssigkeit mit Salzsäure angesäuert und wiederholt mit immer neuen Portionen Essigäther (wenigstens 5 Mal) ausgeschüttelt. Der abgehobene Essigäther wird durch Schütteln mit Wasser gewaschen und bei mässiger Temperatur verdunstet, wonach die Hippursäure neben Benzoësäure und Fett, wenn diese zugleich zugegen sind, zurückbleibt; von diesen Verunreinigungen lässt sich die Hippursäure durch Behandeln mit Petroläther befreien, welcher die Hippursäure ungelöst zurücklässt. Die Säure wird dann in wenig warmem Wasser gelöst, die Lösung mit etwas Thierkohle digerirt und bei höchstens 50—60° zur Krystallisation verdunstet.

Der Aether bildet mit den Lösungen, mit denen er geschüttelt wird, oft Emulsionen, in denen eine Trennung der Flüssigkeiten in zwei Schichten schlecht von Statten geht; diesem Uebelstand lässt sich vorbeugen, wenn man die Flaschen, in welchen man die Flüssigkeiten schütteln will, nahezu ganz anfüllt. — Nach W. v. Schröder[2]) lässt sich eine bessere Trennung der Essigätherlösung von dem Waschwasser erreichen, wenn man dem Wasser etwas Kochsalz zufügt.

Krystallisirt die erhaltene Hippursäure nicht, so verwandelt man sie nach Bunge und Schmiedeberg durch Kochen ihrer wässrigen Lösung mit kohlensaurem Zink in das Zinksalz, dampft die Lösung ein, nimmt das hippursaure Zink mit Alkohol auf, verdunstet den Alkohol und behandelt den Rückstand mit verdünnter Salzsäure und Essigäther. — Schultzen entfernte die die Krystallisation störenden fremden Stoffe in der Weise, dass er den Extractionsrückstand in Wasser löste, die Lösung mit einem Tropfen Bleiessig fällte, das Filtrat mit Schwefelwasserstoff behandelte, eindampfte und nach dem Erkalten mit etwas Salzsäure versetzte.

Aus einem trocknen Gemeng von Benzoësäure und Hippursäure zieht Chloroform nach Fischer die Benzoësäure sehr schnell aus und lässt die Hippursäure fast quantitativ zurück; versetzt man eine Lösung beider Säuren mit viel Chloroform, so wird die Hippursäure nach und nach beinahe vollständig gefällt, während die Benzoësäure vollständig in Lösung bleibt. — Gonnermann[3]) bewerkstelligt die Trennung der beiden Säuren in der Weise, dass er den Essigätherauszug zum Syrup verdunstet, und den Rückstand in Chloroform löst, dem auf 100 cc 5 cc Benzol zugesetzt sind. Die anfänglich klare Lösung trübt sich schnell unter Abscheidung von Hippursäure. Nach 24 St. wäscht man den Niederschlag an der Saugpumpe

1) G. Bunge u. Schmiedeberg, Archiv f. exper. Pathol. 6. 235.
2) W. v. Schröder, Ztschr. f. physiol. Ch. 3. 325.
3) Ch. S. Fischer, Ztschr. f. physiol. Ch. 19. 171. 1894. — M. Gonnermann, Pflüger's Archiv 59. 44. 1894.

erst mit benzolhaltigem, dann mit reinem Chloroform, bis dieses auf dem Uhrglas keinen tropfenförmigen Rückstand mehr hinterlässt. Die Hippursäure ist vollkommen weiss.

b. Das Verfahren von G. Meissner[1]) bezweckt namentlich eine vollständige Trennung der Hippursäure von der Bernsteinsäure.

Der Harn wird mit Barytwasser ausgefällt, der überschüssige Baryt vorsichtig mit Schwefelsäure entfernt, das noch alkalische Filtrat mit Salzsäure vollends genau neutralisirt, bis zur Syrupconsistenz eingedampft und die noch heisse Flüssigkeit sofort mit soviel absolutem Alkohol versetzt, bis keine Trübung mehr entsteht. Die alkoholische Lösung, welche alle Hippursäure und keine Bernsteinsäure enthält, wird durch Verdunsten völlig vom Alkohol befreit, der Rückstand noch warm mit einigen Tropfen concentrirter Salzsäure versetzt und wiederholt mit Aether ausgeschüttelt. Nach dem Verdunsten des Aethers pflegt die Hippursäure auszukrystallisiren.

c. Cazeneuve[2]) dunstet 250 cc Harn auf 25 cc ein, fügt dann 5 cc Salzsäure (nach Loebisch besser Essigsäure) und 50 g gebrannten Gyps zu und trocknet vollends. Der Rückstand wird gepulvert und in einem Extractionsapparat mit wasser- und alkoholfreiem Aether (besser Essigäther) völlig erschöpft. Vom Auszug wird der Aether abgedunstet und der Rückstand aus wenig Wasser umkrystallisirt.

d. Völker[3]) wendet ein dem Cazeneuve'schen Verfahren ähnliches an.

Es werden 200—300 cc Harn in einer Hofmeister'schen Glasschale von 100 cc Fassungsraum auf ein Drittel eingedampft, dann mit 4 g Natronphosphat (B. 2) versetzt, und, wenn der Rückstand syrupdick geworden ist, mit überschüssigem gebrannten Gyps. Dann wird vollends getrocknet, die Masse sammt der Schale gepulvert und das Pulver im Soxhlet'schen Extractionsapparat erst 4—6 Stunden mit frisch rectificirtem Petroläther vom Siedepunkt 60—80^0, und darauf 6—10 Stunden mit wasser- und alkoholfreiem Aether ausgezogen. Nach dem Verjagen des Aethers wird der Rückstand in heissem Wasser gelöst, mit Thierkohle entfärbt, die Kohle völlig mit heissem Wasser ausgewaschen und die Lösung bei 50—60^0 auf 1—2 cc eingedampft und der Krystallisation überlassen. Die Krystalle werden noch mit einigen Tropfen Wasser und Aether nachgewaschen.

D. *Nachweis.* Für den Nachweis der Hippursäure ist es erforderlich, sie als solche zu isoliren, wozu eine der unter C. 2 beschriebenen Methoden zu verwenden ist. Die krystallisirte Hippursäure erkennt man leicht an ihrer Krystallform (B. 1), ihrem Verhalten bei der trockenen Destillation (B. 9) und ihrer leichten Löslichkeit in Alkohol und heissem Wasser. Neben diesen Proben lassen sich zur weiteren Bestätigung die Lücke'sche Reaction (B. 7) und das Verhalten eines ihrer Salze gegen säurefreies Eisenchlorid (B. 2) verwenden. Durch die Bestimmung des Schmelzpunktes lässt sie sich leicht und sicher von der Phenacetursäure (§ 22.) unterscheiden.

---

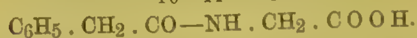
[1]) G. Meissner und C. U. Shepard, Untersuchungen über die Entstehung der Hippursäure. Göttingen 1866. 11 u. 108.

[2]) P. Cazeneuve, Journ. de Pharm. et de Chimie [4] **29**. 309; Ztschr. f. analyt. Ch. **19**. 252.

[3]) O. Völker, Chem. Centralbl. 1887. 125.

§ 22. Phenacetursäure.


$C_{10}H_{11}NO_3$.


$C_6H_5 . CH_2 . CO—NH . CH_2 . COOH$.

A. *Vorkommen.* Sie ist zuerst von E. Salkowski im Harn des Pferdes aufgefunden worden und findet sich da regelmässig in kleiner Menge (0,8 g im Liter gefunden), auch kommt sie zeitweilig im Harn des Menschen vor. Sie stammt von der bei der Fäulniss von Eiweiss im Darm entstehenden Phenylessigsäure (α-Toluylsäure) ab; nach Verabreichung dieser Säure an Hunde und Kaninchen findet sie sich nach E. Salkowski und H. Salkowski in reichlicher Menge im Harne vor. Hotter[1]) dagegen vermisste sie im Harne von Menschen, welche mehrere Tage hinter einander täglich 3 g α-Toluylsäure genommen hatten.

B. *Eigenschaften.* 1. Wenn die Phenacetursäure langsam aus wässriger Lösung krystallisirt, so bildet sie harte, kleine, aus dicken rhombischen Tafeln mit abgerundeten Winkeln bestehende Krystalle, die manchen Harnsäureformen ähnlich sind, oder dicke, anscheinend rechtwinklige Prismen mit zweiflächiger Zuspitzung. Aus heissem Wasser krystallisirt sie in dünnen, dicht auf einander liegenden Plättchen, aus Alkohol und Essigäther nach Hotter[2]) in würfelähnlichen Krystallen. Sie löst sich in 136 Theilen Wasser von 11—12°, also leichter als Hippursäure, leichter in heissem als in kaltem Wasser, schwer in heissem Benzol, ziemlich schwer in heissem Chloroform, leicht in Alkohol und in Essigäther. Sie schmilzt bei 143° und zersetzt sich bei 190—200°.

2. Ihre Alkalisalze sind in Wasser leicht löslich. Die Lösung derselben giebt mit den Salzen der Erdalkalien keine Niederschläge, ausser, wenn sie sehr concentrirt ist, aber mit den Salzen der schweren Metalle.

Das Kalksalz $Ca(C_{10}H_{10}NO_3)_2, 2H_2O$ krystallisirt aus heissem Wasser in feinen Nadeln, welche nach dem Trocknen in Form glänzender weisser Plättchen erscheinen. Verliert das Krystallwasser erst bei 140—150°, löst sich bei 11° in 31,6 Thlen Wasser. — Das Zinksalz ist wasserfrei, löst sich schwer in kaltem, leicht in heissem Wasser. — Das Kupfersalz, mit $1 H_2O$, bildet grünlich blaue Plättchen. — Das Bleisalz, mit $1 H_2O$, langgestreckte Prismen, ist auch in heissem Wasser schwer löslich. — Das Silbersalz ist wasserfrei, amorph und in Wasser fast unlöslich.

3. Beim Kochen mit concentrirter Salzsäure zerfällt die Phenacetursäure in Phenylessigsäure und Glykokoll.

Die Phenylessigsäure bildet dünnne, in kaltem Wasser schwer, in heissem leichter lösliche Plättchen vom Schmelzpunkt 76,5°.

---

1) E. Salkowski, Berichte d. chem. Gesellsch. **17**. 3310. 1884; Ztschr. f. physiol. Ch. **9**. 229. u. 501. 1885. — E. Salkowski u. H. Salkowski, Berichte d. chem. Gesellsch. **12**. 653. 1879; Ztschr. f. physiol. Ch. **7**. 162. 1882/83. — E. Hotter, Journ. f. prakt. Ch. [2] **38**. 117. 1888.

2) E. Hotter, a. a. O. 97.

4. Wird Phenacetursäure über den Schmelzpunkt erhitzt, so färbt sie sich roth, wie die Hippursäure und entwickelt dabei einen aromatischen Geruch.

C. *Darstellung.* Aus Pferdeharn gewinnt man die Phenacetursäure nach E. Salkowski's letzter Vorschrift[1]) in folgender Weise.

Es wird 1 *l* Harn auf 200 cc eingedampft, der Rückstand in 800 cc Alkohol von 95 % gelöst, das Filtrat verdunstet, und die wässrige Lösung des Rückstandes stark mit Salzsäure angesäuert. Nachdem die nach einigem Stehen etwa ausgefallene Hippursäure abfiltrirt worden ist, wird die Flüssigkeit wiederholt mit alkoholhaltigem Aether (wohl besser Essigäther) ausgeschüttelt, der ätherischen Lösung die Säure durch Schütteln mit überschüssiger Sodalösung entzogen und diese dann nach dem Ansäuern mit Salzsäure wieder mit Aether ausgeschüttelt; der beim Abdestilliren des Aethers zurückbleibende Syrup wird mit 50—80 cc Wasser zum Sieden erhitzt, die Lösung nach 24 Stunden abfiltrirt, auf 15 cc eingedampft und der Krystallisation überlassen. Die Krystalle werden durch Abpressen zwischen Thonplatten von anhaftender schmieriger Substanz befreit und aus heissem Wasser unter Zusatz von Thierkohle umkrystallisirt. Von etwa beigemengter Hippursäure lassen sich die Krystalle durch Schlämmen, von beigemengter Benzoësäure durch Aether befreien.

In gleicher Weise kann die Phenacetursäure aus Menschenharn erhalten werden.

D. *Nachweis.* Erkannt wird die Phenacetursäure an ihrer Krystallform und an ihrem Schmelzpunkt. Beim Ueberhitzen verhält sie sich wie die Hippursäure.

§ 23. Gallensäuren.

A. *Vorkommen.* Gallensäuren sollen nach Hoene und Dragendorff in Spuren auch im normalen Harn nachweisbar sein, was von Mackay und von v. Udránszky in Abrede gestellt wird. Auch nach Mörner ist das Vorkommen von Gallensäure (Taurocholsäure) im normalen Harn keineswegs die Regel; er vermisste sie selbst bei der Untersuchung sehr grosser Mengen (90 Liter) Harn. In einigermassen erheblichen Mengen treten sie aber im icterischen Harn auf, sowie nach Pouchet[2]) in wechselnden Mengen in dem nach dem Stadium algidum der Cholera entleerten Harn. Wie es scheint, sind die Gallensäuren des Harns die sogenannten gepaarten Gallensäuren.

Araki[3]) fand sie im Harn eines mit Arsen vergifteten Hundes.

B. *Eigenschaften.* 1. Die in der Galle vorkommenden Gallensäuren sind amidartige, der Hippursäure analoge Verbindungen der stickstofffreien Cholsäuren mit Glykokoll oder mit Taurin. Aus diesen sog. gepaarten Gallensäuren lassen sich durch Zersetzung derselben mit Alkalihydraten oder den Hydraten der alkalischen Erden, sowie mit Säuren die Cholsäuren darstellen, die, je nach der Thierart, Verschiedenheiten,

---

[1]) E. Salkowski, Ztschr. f. physiol. Ch. **9**. 233. 1885.

[2]) A. G. Pouchet, Comptes rendus **100**. 362. 1885. — K. A. H. Mörner, Skandin. Arch. **6**. 371. 1895.

[3]) Araki, Ztschr. f. physiol. Ch. **17**. 337.

weniger in den Eigenschaften, als in der Zusammensetzung, aufweisen. Die Galle des Menschen enthält nach Schotten zwei Cholsäuren, von welchen die eine mit der Cholsäure der Rindergalle identisch ist (Cholsäure), und die Fellinsäure. Die Hundegalle enthält, wie es scheint, dieselbe Cholsäure. Die Gallensäuren besitzen einen bitteren Geschmack. Alle Gallensäuren lassen sich nach Méhu[1]) durch Sättigen ihrer Lösungen mit Ammonsulphat fällen.

a. Die Cholsäure, $C_{24}H_{40}O_5$, welche aus ihren Salzen durch Säuren amorph gefällt wird, krystallisirt nach Mylius[2]) aus heissem Wasser wasserfrei in mikroskopischen Krystallen, aus Aether (Strecker) oder beim Verdünnen ihrer Lösung in Eisessig mit Wasser bis zur milchigen Trübung in rhombischen Tafeln mit 1 Mol. H_2O, aus Alkohol mit 1 Mol. C_2H_6O in orthorhombischen Tetraëdern oder Octaëdern.

Auch mit anderen Alkoholen (Methyl-, Allylalkohol) und mit Aceton (je 1 Mol.) liefert sie krystallisirende Verbindungen.

Sie löst sich in 4000 Theilen kaltem und 750 Theilen kochendem Wasser, in 21 Theilen kaltem Alkohol (von 70%) und in 27 Theilen Aether, sehr schwer in Schwefelkohlenstoff, äusserst leicht in Eisessig. Sie ist optisch activ; für die krystallalkoholhaltige beträgt für Lösungen mit 0,5—2,0% nach Vahlen $[\alpha]_D = 31.5$, für die alkoholfreie 37,0. Sie schmilzt bei 195° (Mylius). Beim Erhitzen auf 200° oder beim Kochen mit Säuren verwandelt sie sich in ein in Wasser und Alkohol unlösliches, in Aether sehr schwer lösliches Anhydrid, das Dyslysin $C_{24}H_{36}O_3$. Sie entwickelt in der Hitze terpentinartig riechende Dämpfe. Der Cholsäure eigenthümlich ist nach Mylius[3]) die Fähigkeit, mit Jod in Gegenwart eines Jodids eine krystallinische blaue Verbindung, Jodcholsäure, $(C_{24}H_{40}O_5\,J)_4HJ$, zu bilden.

Die Cholsäure ist einbasisch. Die Alkalisalze krystallisiren, lösen sich sehr leicht in Wasser und werden durch Alkalihydrate oder -carbonate gefällt; das Barytsalz bildet feine seidenglänzende Nadeln und löst sich in 30 Thl. kaltem Wasser; das Magnesiasalz löst sich noch leichter; das krystallisirende Bleisalz und das amorphe Silbersalz sind in Wasser unlöslich. Die meisten Salze lösen sich in Alkohol und werden aus dieser Lösung durch Aether gefällt. Sie drehen rechts, aber schwächer wie die Säure, die Alkalisalze nach Vahlen in 1proc. wässriger Lösung ungefähr 30°, in alkoholischer stärker; ihre spec. Drehung nimmt mit steigender Concentration erheblich ab.

b. Die Fellinsäure, $C_{23}H_{40}O_4$, wird aus ihren Salzen durch Säuren in weissen amorphen Flocken niedergeschlagen. Aus Alkohol krystallisirt sie nur schwierig, sie scheidet sich meist in durchsichtigen spröden Massen ab, aus Benzol dagegen, sowie auf Zusatz von Aether

---

1) C. Schotten, Ztschr. f. physiol. Ch. **10**. 175. 1886; **11**. 268. 1887. — C. Méhu, Journ. de pharm. et de chimie [4] **28**. 164. 1878.

2) Mylius, Berichte d. chem. Gesellsch. **19**. 369. 1886.

3) E. Vahlen, Ztschr. f. physiol. Ch. **21**. 264. 1895. — Mylius, Ztschr. f. physiol. Ch. **11**. 314. 1887.

zur alkoholischen Lösung krystallirt sie in glänzenden, nahezu rechtwinkligen Täfelchen. Die amorphe Säure schmilzt bei 142 °. Beim Erhitzen entwickelt sie, wie die Cholsäure, terpentinartig riechende Dämpfe.

Die Säure ist gleichfalls einbasisch. Das Baryumsalz krystallisirt mit $4 H_2O$ in sternförmig gruppirten Nadeln beim Versetzen der alkoholischen Lösung mit Wasser, löst sich in 870 Thlen. kaltem Wasser, nicht besser in heissem, wenig oder gar nicht in absolutem Alkohol oder solchem von 96 %, in verdünntem Alkohol besser als in Wasser. Das Magnesiumsalz, mit $2^1/_2$ H_2O ist in Wasser so gut wie unlöslich, aus seiner alkoholischen Lösung fallen auf Zusatz von Wasser glänzende weisse wollige Nadeln, die unter dem Mikroskop als platte rechtwinklige Prismen erscheinen.

c. Die Glykocholsäure der Rindsgalle bildet farblose Nadeln, löst sich schwer in kaltem Wasser, leicht in kochendem Wasser und in Alkohol, auch in Chloroform, aber wenig in Aether. Sie fällt nach Maly[1]) Eiweisskörper in saurer Lösung nicht.

Aus der heissen wässrigen Lösung krystallisirt sie, aus der alkoholischen dagegen nicht. $[\alpha]j = 29^0$ (in alkoholischer Lösung). Beim Erwärmen ihrer Lösung in concentrirter Schwefelsäure wird sie unter Verlust von 1. Mol. Wasser in die Cholonsäure verwandelt, welche sich nicht in Wasser, aber in Alkohol löst. Ihre Salze mit den Alkalien oder alkalischen Erden sind in Wasser und in Alkohol löslich, die meisten Salze der schweren Metalle unlöslich; ihre löslichen Salze werden durch neutrales und basisches essigsaures Blei gefällt, sowie durch Kupfer-, Silber- und Eisenoxydsalze, aber nicht durch Quecksilberchlorid; versetzt man die alkoholische Lösung des glykocholsauren Natrons mit Aether bis zur dauernden Trübung, so krystallisirt das Salz aus. Die spec. Drehung des in Alkohol gelösten Natronsalzes beträgt für gelbes Licht $+ 25,7^0$.

d. Die Taurocholsäure der Rinds- (und Hunde-) Galle bildet feine, leicht zerfliessliche Nadeln, löst sich leicht in Wasser, ferner in Alkohol und in Chloroform. Sie fällt nach Maly wie Mörner[1]) bestätigt, Eiweiss in saurer Lösung sehr vollständig, aber Albumose nicht. Salze beeinträchtigen nach Mörner die Fällung.

Sie dreht rechts. Ihre Salze verhalten sich wie die der Glykocholsäure; aus ihren löslichen Salzen wird sie aber nicht gefällt durch Kupfer- und Silbersalze, durch Quecksilberchlorid sowie durch neutrales Bleiacetat, sondern nur durch basisch essigsaures Blei, vollkommen durch essigsaures Blei und Ammoniak; das taurocholsaure Natron kann in derselben Weise krystallisirt erhalten werden, wie das glykocholsaure. In alkoholischer Lösung besitzt ihr Natronsalz für gelbes Licht eine spec. Drehung von $+ 24,5^0$.

e. In der Menschengalle findet sich eine durch Essigsäure sowie durch Chlorcalcium und Chlorbaryum fällbare Gallensäure, vielleicht Glykofellinsäure (Hammarsten[2]).

2. Die Pettenkofer'sche Reaction. Setzt man zu einer Lösung von Gallensäuren, die nur Spuren derselben zu enthalten braucht, $^2/_3$ Volumen englische Schwefelsäure so langsam hinzu, dass sich das Gemisch nicht über 60^0 erwärmt, darauf 3—5 Tropfen einer Lösung

[1]) R. Maly, Monatshefte f. Ch. 4. 91. 1882. — K. A. H. Mörner, a. a. O.
[2]) Hammarsten, Nova Acta Reg. Societ. Scient. Upsal., Ser. III., Vol. 16. 1893; Jahresber. f. Thierch. 1893. 331.

von 1 Theil Rohrzucker in 4—5 Theilen Wasser und schüttelt um, so färbt sich die Flüssigkeit erst roth, dann sehr schön violett (Pettenkofer). Die Reaction tritt ebenso ein, wenn der Zucker vor der Schwefelsäure der Gallensäurelösung zugesetzt wird. — Verdünnt man die erhaltene farbige Flüssigkeit (mit Alkohol) so stark, dass sie vom Spectrum nur das Violett absorbirt, so zeigt sie nach Schenk[1]) einen Absorptionsstreifen zwischen D und E und einen zweiten vor F.

Kurz nach Eintritt der Rothfärbung ist nach v. Udránszky auch ein bereits von Bogomoloff[2]) wahrgenommener scharf begrenzter Absorptionsstreifen zwischen C und D, näher bei D, zu sehen, der aber in den meisten Fällen bald verschwindet; das Gesichtsfeld hellt sich dann bis etwa zur Mitte zwischen D und E auf.

Wie Mylius[3]) gezeigt hat, beruht die Pettenkofer'sche Reaction auf der Verwandlung des Zuckers durch die Schwefelsäure in Furfurol.

Von dieser Reaction sind mehrere Modificationen angegeben worden.

a. Nach Neukomm[4]) ist bei der Anstellung der Probe im Reagensglas eine purpurrothe, nur schwach in's Violette spielende Färbung noch wahrnehmbar mit 3 cc einer 0,1 proc. Cholsäurelösung; Glykocholsäure ist noch weniger empfindlich. Die Gallensäuren lassen sich aber durch die purpurviolette Färbung noch mit voller Schärfe in einem Tropfen einer 0,05 proc. Lösung nachweisen, wenn man die Flüssigkeit mit einem Tropfen auf das fünffache Volumen verdünnter Schwefelsäure und einer Spur Zuckerlösung in einer Schale mischt und unter Umschwenken vorsichtig und gelinde erhitzt. Bei stärkerer Verdünnung der Lösung concentrirt man dieselbe vorher. Beim Erwärmen der Probe im Wasserbade tritt die Reaction unvergleichlich sicherer ein, als beim Erwärmen über der freien Flamme.

b. Wenn man zu eingedampfter Gallensäurelösung ein Tröpfchen sehr verdünnter Rohrzuckerlösung und dann einen Tropfen concentrirter Schwefelsäure setzt, so erhält man nach Külz[5]) die Färbung sehr schön und schnell, auch ohne dass man erwärmt; tritt die Reaction nicht bald ein, so kann man sie noch dadurch hervorrufen, dass man das Schälchen kurze Zeit auf das Wasserbad stellt.

c. Versetzt man nach Vitali[6]) ein gallensaures Salz unter Umrühren mit einigen Tropfen concentrirter Schwefelsäure, einigen Körnchen Zucker und dann mit ein paar Tropfen Alkohol, so erwärmt sich die Flüssigkeit von selbst so stark, dass die Violettfärbung auftritt.

d. Wenn man nach Drechsel[7]) die Substanz, welche auf Gallensäure geprüft werden soll, z. B. ein winziges Körnchen cholsaures Natron, nebst einer Spur Rohrzucker in 1—3 Tropfen einer Mischung von 5 Vol. syrupdicker Phosphorsäure und 1 Vol. Wasser löst und die Lösung durch Eintauchen in kochendes Wasser erwärmt, so stellt sich in kürzester Frist eine schöne Rothfärbung ein.

e. v. Udránszky[8]) wendet direkt Furfurol an. Man setzt zu 1 cc der wässrigen oder alkoholischen Lösung der Substanz 1 Tropfen

1) Pettenkofer, Ann. d. Chem. u. Pharm. 52. 90. 1844. — S. L. Schenk, Anatomisch-physiol. Untersuchungen. Wien 1872. 47; Jahresber. f. Thierch. 2. 232.

2) v. Udránszky, Ztschr. f. physiol. Ch. 12. 372. 1888. — Th. Bogomoloff, Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1869. 532.

3) F. Mylius, Ztschr. f. physiol. Ch. 11. 492. 1887.

4) J. Neukomm, Archiv f. Anat. u. Physiol. 1860. 365.

5) Külz, Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1875. 515; Ztschr. f. anal. Ch. 15. 106.

6) Diosc. Vitali, Ber. der chem. Gesellsch. 14. 547.

7) E. Drechsel, Journ. f. prakt. Ch. [2] 24. 44; 27. 424.

8) v. Udránszky, a. a. O.

0,1 proc. wässrige Furfurollösung, lässt unter die Mischung 1 cc concentrirte Schwefelsäure fliessen und kühlt ab, um die Reaction zu mässigen. Bei Gegenwart von nur 0,033 mg Cholsäure tritt nach längerem Stehen noch pfirsichblüthrothe Färbung ein und bei 0,05 mg Cholsäure sind auch die Absorptionsstreifen deutlich zu sehen. — Eine 10 proc. Rohrzuckerlösung richtet so viel aus, wie die 0,1 proc. Furfurollösung.

f. Charakteristisch für die Gallensäuren ist die Reaction nur dann, wenn das Roth der Färbung eine unzweifelhafte Beimischung von Blau (violett) zeigt. Ein Ueberschuss an Zucker macht die Flüssigkeit braun oder schwarz, ein Ueberschuss an Furfurol orange- bis ziegelroth. Rothe und selbst violette Färbung geben überdies eine Reihe anderer Substanzen, so Eiweiss, Oelsäure (Kunde), Ricinölsäure (Neukomm), Amylalkohol, Cholesterin, Benzol, Phenol, Terpentinöl, Nelkenöl, Kampher, Salicylsäure, Pyrogallussäure, Piperin, Morphin etc. (Kingzett und Hake) und viele andere Substanzen, welche v. Udránszky zusammengestellt hat. — Die rothen Flüssigkeiten, welche mit Eiweiss, Oelsäure, Amylalkohol entstehen, zeigen keine Absorptionsstreifen (Bogomoloff[1]), Schenk). Von einigen anderen Substanzen hat v. Udránszky ermittelt, dass die Reactionsproducte Absorptionsspectren geben, doch besitzen die Streifen eine andere Lage als bei der Cholsäure. — Gleichzeitige Gegenwart oxydirender Körper verhindert diese Farbenreactionen (Huppert).

3. Versetzt man Gallensäure in Substanz mit Baryumsuperoxyd oder Bleisuperoxyd, Zinnchlorid, oder Antimonchlorür und Schwefelsäure oder Salzsäure, so treten, wie Casali[2]) angiebt, farbige Substanzen in bestimmter Reihenfolge auf, zuerst Gelb, dann Roth, Weinroth, Violett, Blauviolett.

4. Nach Pickering[3]) geben die Cholsäure und die Taurocholsäure, wie das Cholesterin, die Xanthoproteïnreaction unter Entwicklung rother Dämpfe.

5. Cholsäure lähmt wie die gepaarten Gallensäuren das Herz (Röhrig).

C. *Nachweis.* Der Nachweis der Gallensäuren wird mittelst der Pettenkofer'schen Reaction geführt, und zwar am Besten in der Modification von Udránszky (B. 2. e.), weil man bei dieser nur sehr wenig Substanz nöthig hat und sich die Bedingungen für das Gelingen der Reaction leicht erfüllen lassen. Weil viele andere Substanzen eine ähnliche Färbung geben, wie die Gallensäuren, so soll man sich nicht bloss mit dem Auftreten der Färbung begnügen, sondern die farbige Lösung noch spectroskopisch untersuchen. Mackay[4]) hat sich zum Nachweis der Gallensäuren lediglich ihrer physiologischen Wirkung auf das Herz bedient. Das Verfahren könnte auch zur Kontrole der Pettenkofer'schen Probe benützt werden.

Um den störenden Einfluss zu beseitigen, welchen andere Substanzen (B. 2. f), die sich bei der Pettenkofer'schen Probe auch roth oder violett färben, auf diese ausüben, schlägt Vitali vor, die fragliche Substanz nach Zusatz verdünnter

---

[1]) Th. Bogomoloff, Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1868. 529; 1869. 484. und 532.

[2]) A. Casali, Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1878. 583; Ztschr. f. anal. Ch. **18**. 128.

[3]) J. W. Pickering, Journal of Physiol. **14**. 372. 1893.

[4]) J. C. H. Mackay, Archiv f. exper. Pathol. **19**. 279. 1885.

Schwefelsäure einzudampfen, bis die Färbung durch violettroth in gelb übergegangen ist und allmählich Wasser hinzuzusetzen; bei Gegenwart von Gallensäuren entsteht zunächst eine gelbgrüne Färbung und endlich ein blaugrüner Niederschlag, der, nach dem Abgiessen der Flüssigkeit, unter Zusatz von sehr wenig Zucker in Alkohol gelöst und in einer Porzellanschale bei gelinder Wärme verdunstet wird. Waren Gallensäuren vorhanden, so wird der Rückstand nach dem Verdunsten des Alkohols prächtig rothviolett und beim Stehen an der Luft durch Wasseranziehung blau. Die übrigen Substanzen färben sich dabei entweder gar nicht rothviolett oder nur in geringem Maasse.

Mackay verfuhr so, dass er den Harn mit 2—3 Vol. starkem Alkohol fällte, das Filtrat eindampfte und mit dem Rückstand das Verfahren 2—3 mal wiederholte, die alkoholische Lösung mit Aether fällte, und den Niederschlag, welcher die Gallensäuren enthalten sollte, in Wasser löste. Es wurde dann das Herz eines Frosches blosgelegt, dasselbe in situ mit einem Tröpfchen einer 1 proc. Atropinsulfatlösung benetzt, um die Hemmungswirkung des Vagus auszuschliessen, und dann mit der wässrigen Lösung des Harnauszugs betropft. Bei Gegenwart von Gallensäuren vermindert sich die Häufigkeit der Herzcontractionen bis zum völligen Stillstand.

1. Der direkte Nachweis von Gallensäuren im Harn mit der Pettenkofer'schen Probe ist so gut wie aussichtslos, weil der normale Harn dabei eine Färbung annimmt, welche mit der bei der Pettenkofer'schen Probe verwechselt werden kann, und auch da, wo dies nicht der Fall ist, der icterische Harn wegen seiner Farbe und des immer noch zu geringen Gehalts an Gallensäuren zur direkten Anstellung der Probe nicht geeignet ist.

a. Setzt man zu normalem Harn vom Menschen oder Hund concentrirte Schwefelsäure, ohne zu mischen, so entsteht an der Berührungsstelle beider Flüssigkeiten ein schön weinrother, öfter in's Violette spielender Ring; schüttelt man um, so erscheint die Flüssigkeit weinroth, nicht selten auch violettroth. Diese Färbungen sind vorzüglich durch das Indican und die Skatoxylschwefelsäure bedingt. Eine völlig unzweideutige Reaction giebt der Harn erst bei einem Gehalt von 0,5 % Gallensäure (Neukomm).

Dampft man nach Stokvis[1]) 1—2 cc Harn mit 1—2 Tropfen sehr verdünnter Rohrzuckerlösung auf dem Wasserbade zur Trockne ein und setzt dann einige Tropfen verdünnte Schwefelsäure (1 : 5) oder Phosphorsäure zu, so erhält man fast mit jedem menschlichen Harn eine recht schöne Pettenkofer'sche Reaction.

Auch der in Aether unlösliche Antheil des alkoholischen Auszugs normaler Harne giebt in wässriger Lösung nach Mackay bei der Pettenkofer'schen Probe immer eine violette Färbung, ohne dass er, nach seinem negativen Verhalten gegen das Froschherz, Gallensäure enthält.

Mit einer ebensolchen Lösung erhielt v. Udránszky eine rothbraune Furfurolreaction ohne Absorptionsstreifen. Auch ein nach Dragendorff (2. c.) bereiteter Chloroformauszug aus normalem Harn gab in alkoholischer Lösung eine schwach rothgefärbte Lösung, gleichfalls ohne das Absorptionsspectrum; die wässrige Lösung der fraglichen Substanz wurde mit dem Millon'schen Reagens roth, dürfte also aromatische Oxysäuren (§ 24. I.) enthalten haben.

b. Nach v. Udránszky kann man bei der direkten Untersuchung des Harns so verfahren, dass man einen Tropfen desselben mit 1 cc Wasser verdünnt. Normaler Harn mit 0,12 % Cholsäure giebt dabei nach kurzer Zeit eine schön kirschrothe Färbung und zeigt auch ohne weitere Verdünnung die Absorptionsstreifen; nach 24 Stunden ist die Flüssigkeit dunkelblau. Enthält der Harn weniger Cholsäure, so ist die Verdunkelung, welche der normale Harn bei

---

[1]) Stokvis, Archiv f. klin. Med. 33. 115. 1883.

der Probe erleidet, so bedeutend, dass die Gallensäurereaction ganz verdeckt wird. Bei icterischen Harnen ist der Nachweis durch die stärkere Eigenfarbe des Harns noch besonders erschwert. Lässt sich die Reaction mit einem Tropfen Harn nicht erzielen, so giebt sie mit grösseren Mengen Harn meistens auch kein besseres Resultat. Mit icterischem Harn gelingt die Reaction in nicht vielen Fällen.

c. Nach Strassburg[1]) soll man den Harn mit etwas Rohrzuckerlösung versetzen, einen Streifen Fliesspapier in denselben eintauchen und dasselbe trocknen lassen. Betupft man den Streifen darauf mit einem Tropfen concentrirter Schwefelsäure und lässt diese etwas abfliessen, so entsteht nach etwa $^1/_4$ Minute eine besonders im durchfallenden Licht hervortretende schöne violette Färbung, wenn der Harn Gallensäure enthält Man soll so noch 0,3 g Gallensäure im Liter Harn nachweisen können. Normaler Harn giebt keine violette, sondern nur eine röthliche, und wenn zu viel Zucker zugesetzt worden ist, eine bräunliche Färbung. „Geleimtes" Papier färbt sich durch die in ihm enthaltenen Harze mit Schwefelsäure allein violettroth.

d. Auch der Niederschlag, den man beim Sättigen des Harns mit Ammonsulphat erhält, ist zum Nachweis der Gallensäuren nicht geeignet. Der Niederschlag aus normalem Harn enthält farbige Substanzen, die mit Schwefelsäure eine rothe Lösung geben.

2. Wenn man die Gallensäuren mit zweifelloser Sicherheit im Harn nachweisen will, so müssen sie aus dem Harn dargestellt werden, Man kann sie dazu entweder als Bleisalze oder Chininsalze oder (die Taurocholsäure) als Eiweissverbindung ausfällen, oder dem Harn mittelst Chloroform entziehen.

a. Nach Neukomm[2]) verdampft man mindestens 300—500 cc Harn im Wasserbade bis fast zur Trockne, und extrahirt den gebliebenen Rückstand mit gewöhnlichem Alkohol; die weingeistige Lösung wird von Neuem verdunstet und der Rückstand mit absolutem Alkohol extrahirt. Die so gewonnene, nunmehr ziemlich salzarme Lösung wird vom Weingeist befreit, der Rückstand mit wenig Wasser aufgenommen und die Lösung mit Bleiessig ausgefällt, wobei ein Ueberschuss sorgfältig zu vermeiden ist; es ist nicht unzweckmässig, die Fällung fractionirt auszuführen; der Niederschlag wird nach etwa 12 stündigem Stehen gesammelt, gewaschen und zwischen Fliesspapier leicht abgetrocknet. Um andere dem Bleiniederschlage beigemengte Substanzen möglichst zu entfernen, zieht man das gallensaure Blei mit siedendem Weingeist aus, verdampft die Lösung unter Zusatz von kohlensaurem Natron zur Trockne, und behandelt den Rückstand zur Gewinnung des gallensauren Natrons mit absolutem Alkohol. Das so erhaltene Natronsalz enthält neben den Gallensäuren immer noch kleine Mengen eines harzigen Harnbestandtheils, welcher sich mit Schwefelsäure braunröthlich, zuweilen auch schwach blau oder violett und beim Erwärmen unter Zuckerzusatz roth- bis gelbbraun färbt. Selten ist diese Färbung so stark, dass dadurch die Gallensäurereaction verdeckt wird, ist dies aber nach einer vorläufigen Prüfung der Fall, so fällt man die Gallensäuren aus der wässrigen Lösung noch einmal mit Bleiessig, sammelt den Niederschlag nach einigem Stehen und zersetzt ihn, wie oben, mit kohlensaurem Natron. — Es lässt sich nach dieser Methode noch 0,01 g Gallensäure, selbst noch die Hälfte, in 100 cc Harn nachweisen.

b. Nach Hoppe-Seyler fällt man den Harn direct mit Bleiessig und ein wenig Ammoniak aus, wäscht den Niederschlag mit Wasser, kocht ihn nach dem Trocknen in gelinder Wärme mehrmals mit absolutem Alkohol aus, und filtrirt heiss. Die alkoholische Lösung des gallensauren Bleis verdunstet man mit einigen Tropfen Sodalösung zur Trockne, kocht den Rückstand mit absolutem Alkohol aus, verdunstet die Lösung auf ein kleines Volumen und versetzt sie in einer ver-

1) G. Strassburg, Pflüger's Archiv 4. 461. 1871.
2) Neukomm, a. a. O. 370.

schliessbaren Flasche reichlich mit Aether, wodurch die gallensauren Salze zunächst als amorpher Niederschlag gefällt werden; derselbe verwandelt sich oft nach längerem Stehen in Büschel schöner Krystallnadeln. – Auch von Hilger[1]) ist dieses Verfahren mit gutem Resultat befolgt worden.

c. Mörner[2]) entfernte die Hauptmenge des Kochsalzes durch Dialyse aus dem Harn, versetzte ihn bis zu 0,1—0,2 % mit Essigsäure und schüttelte ihn kräftig mit viel Chloroform. Dabei fällt das Eiweiss des Harns in Verbindung mit den im Harn enthaltenen eiweissfällenden Substanzen aus, unter denen sich die Taurocholsäure befindet. Wenn sich der Niederschlag in einigen Tagen gut abgesetzt hatte, wurde er abfiltrirt, in schwachem Ammoniak gelöst und wie zuerst mit Essigsäure und Chloroform gefällt. Der Niederschlag wurde abermals in wenig Ammoniak gelöst, die Lösung mit 2—3 Vol. Alkohol versetzt und mit Essigsäure gefällt. In der alkoholischen Lösung befindet sich, wenn sie zugegen ist, die Taurocholsäure. Das stark gefärbte Filtrat wurde neutralisirt, eingedampft, der Rückstand mit starkem Alkohol ausgezogen, die Lösung wieder verdunstet, der Rückstand in wenig Alkohol gelöst und mit Aether gefällt. Dieser Niederschlag gab bei der Verarbeitung von icterischem Harn die Pettenkofer'sche Reaction, auch nach Entfernung der festen Fettsäuren durch Barytsalz, und schmeckte bitter.

Auch Vitali[3]) benutzt bei dem einen seiner Verfahren die Fällbarkeit der Taurocholsäure durch Eiweiss zum Nachweis. Der (icterische) Harn (60 cc) wird mit Schwefelblei bis zur vollständigen Entfärbung geschüttelt, Filtrat und Waschwasser auf $^1/_3$ des ursprünglichen Harnvolumens eingedampft, mit etwas Eiweiss vermischt und unter Zusatz der nöthigen Menge Essigsäure coagulirt. Der Eiweissniederschlag wird gewaschen, mit Alkohol ausgezogen und die Lösung verdunstet; der Rückstand dient zur Anstellung der Pettenkofer'schen Reaction.

d. Vitali gründet ferner ein anderes Verfahren auf die Löslichkeit des gallensauren Chinins in Chloroform. Der nach c entfärbte Harn wird mit einer concentrirten Lösung von essigsaurem Chinin, dann mit Chloroform und so viel Alkohol versetzt, dass sich das Chloroform löst. Das Chloroform wird wieder, ohne zu schütteln, durch Wasser gefällt, verdunstet und der Rückstand zur Pettenkofer'schen Probe verwendet.

e. Um die Gallensäuren aus dem Harn mittelst Chloroform auszuziehen, säuert man nach Dragendorff[4]) 120—150 cc Harn mit einigen Tropfen Salzsäure an und schüttelt ihn mit 30 g Chloroform wenigstens eine Stunde lang. Man trennt den Harn durch Abgiessen, und übergiesst das durch Einschluss von farbigen Substanzen braune Chloroform mit 6—8 cc absolutem Alkohol, wobei der Alkohol die trübenden Flocken aufnimmt, während das Chloroform wieder vollkommen klar wird. Man filtrirt darauf, wobei auf dem Filter häufig eine dicke Gallert entsteht, welche das Chloroform einschliesst und nicht mehr abfliessen lässt. Löst man jedoch diese Gallerte vom Filter durch Rühren mit einem Glasstabe ab, so filtriren Chloroform und Alkohol schnell durch. Das vom Alkohol getrennte Chloroform lässt man auf Uhrgläsern verdunsten.

Wiewohl Dragendorff nach seinem Verfahren Gallensäuren aus Harn in unzweifelhafter Weise dargestellt hat, kann die Pettenkofer'sche Probe dennoch, wenn sie mit dem Chloroformauszug angestellt wird, namentlich wenn dieser nicht

---

1) A. Hilger, Archiv d. Pharmacie **206**. 385; Ztschr. f. analyt. Ch. **15**. 105. 1876.
2) K. A. H. Mörner, Skandin. Archiv **6**. 371. 1895.
3) Vitali, Atti della R. Acad. delle Sc. di Bologna 1892; Ztschr. f. analyt. Ch. **31**. 725; Jahresb. f. Thierch. 1892. 539; 1894. 676.
4) Dragendorff, Pharm. Ztschr. f. Russland 1868. 4. Heft; Ztschr. f. analyt. Ch. **8**. 102. 1869. — A. Vogel, Ztschr. f. analyt. Ch. **11**. 467. — Joh. Hoene, Ueber die Anwesenheit der Gallensäuren im physiologischen Harn. Dorpat 1873. 25.

erst von der färbenden Substanz befreit wird, zu Irrungen Anlass geben. Nach Külz[1]) erhält man die charakteristische Färbung auch dann, wenn man dem Chloroformauszug aus nicht icterischem Harn, namentlich dem gefärbten, blos Schwefelsäure zusetzt, wodurch Gallensäuren nicht gefärbt werden.

§ 24. Aromatische Oxysäuren.

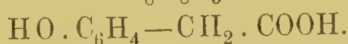
Von solchen hat Baumann im normalen Harn zwei, die Paraoxyphenylessigsäure und die Paraoxyphenylpropionsäure entdeckt; sie finden sich ausnahmslos im Harn des Menschen, Pferdes, Hundes, Kaninchens, auch im Harn der Hühner in geringer Menge. Sie entstehen bei der Fäulniss des Eiweisses im Darm oder auch in den Geweben (Baumann). Im Harn von Thieren mit sterilem Darm finden sie sich nach Nuttall und Thierfelder nicht. Im Liter normalen Menschenharns sind ungefähr 0,01 bis 0,02 g derselben enthalten. An Phenol reiche, pathologische Harne enthalten 2—8 Mal so viel von diesen Oxysäuren, namentlich reich daran ist der Harn bei der acuten Phosphorvergiftung, sowie nach Blendermann[2]) nach der Verfütterung von Tyrosin. Diese Oxysäuren kommen grossentheils als solche im Harn vor, ein kleiner Theil aber auch als Aetherschwefelsäure (vergl. § 7). Ferner gehören hierher die Oxymandelsäure, welche bei Zerstörung des Lebergewebes auftritt, die Oxyhydroparacumarsäure (nach Tyrosinverfütterung), die Gallussäure als zeitweiliger Bestandtheil des Pferdeharns, die Alkaptonsäuren und die Kynurensäure.

I. Die Oxysäuren des normalen Harns.

1. Paraoxyphenylessigsäure.



$C_8H_8O_3$.



$HO.C_6H_4—CH_2.COOH$.

A. *Eigenschaften.* Die Paraoxyphenylessigsäure ist isomer mit der Phenylglykolsäure (Mandelsäure) $C_6H_5.CH(OH).COOH$. Ihre Eigenschaften sind von H. Salkowski und E. Salkowski[3]), sowie von Baumann ermittelt worden.

1. Sie krystallisirt aus kaltem Wasser in farblosen prismatischen, meist flachen, äusserst spröden Nadeln, oder in derben glasglänzenden Prismen, schmilzt bei 148°, verflüchtigt sich bei stärkerem Erhitzen zum Theil unzersetzt und ist im Wasserdampfstrom nicht flüchtig.

---

[1]) Külz. Allgem. med. Central-Ztg. 57. 1875.

[2]) E. Baumann, Ber. d. chem. Gesellsch. **12**. 1450; **13**. 279; Zeitschr. f. physiol. Chem. **4**. 304 u. 307; **10**. 126. — G. H. F. Nuttall u. H. Thierfelder, Ztschr. f. physiol. Ch. **22**. 73. 1896. — Blendermann, Ztschr. f. physiol. Ch. **6**. 247.

[3]) H. Salkowski, Ber. d. chem. Gesellsch. **12**. 1438. — E. Salkowski und H. Salkowski, a. a. O. **12**. 650. 1879.

2. Sie löst sich ziemlich leicht in kaltem Wasser, sehr leicht in heissem Wasser, weniger leicht in salzsäurehaltigem; sie löst sich ferner sehr leicht in Alkohol und in Aether, schwer in Benzol und scheidet sich beim Erkalten der heissen Benzollösung fast vollständig wieder ab. In Wasser und in siedendem Benzol löst sie sich etwas schwerer als die Hydroparacumarsäure.

3. Ihre Alkalisalze sind in Wasser leicht löslich; das Ammonsalz krystallisirt in langen feinen Nadeln. Das Kalksalz $(C_8H_7O_3)_2Ca + 4 H_2O$ scheidet sich aus seiner stark concentrirten Lösung in durchsichtigen tafelförmigen Krystallen ab. Das Barytsalz krystallisirt beim schnellen Erkalten der concentrirten Lösung in feinen Nadeln. — Mit Kupfer-, Zink- und Cadmiumsalzen giebt die Lösung des Ammonsalzes amorphe weisse, sich im Licht färbende Niederschläge, die sich in viel siedendem Wasser lösen und aus der Lösung theils amorph, theils in mikroskopischen Nadeln wieder ausfallen; das Silbersalz hat die Zusammensetzung $C_8H_7AgO_3$. — Ein eigenthümliches Verhalten zeigt das Bleisalz. Essigsaures Blei giebt mit sehr verdünnten Lösungen des Ammonsalzes anfangs keinen Niederschlag, aus concentrirten Lösungen dagegen fällt ein dichtes körnig-krystallinisches Salz aus, das sich in überschüssiger Bleizuckerlösung löst, sich aber aus dieser Lösung wieder allmählich abscheidet. Der Niederschlag löst sich in viel siedendem Wasser und aus dieser Lösung setzt sich ein Salz $(C_8H_7O_3)_2Pb$ in trüben, etwas gelblich grauen, harten Krystallkörnern ab (kleine Drusen). Dasselbe Salz scheidet sich auch aus den anfangs klar gebliebenen Mischungen ab. Bei längerem Stehen der Lösung bilden sich ausserdem noch durchsichtige bräunlichgelbe, glänzende Krystalle, $(C_8H_7O_3)_2Pb + 2 H_2O$, sämmtlich Zwillinge, wie es scheint des triklinischen Systems.

4. Die wässrige Lösung der Säure färbt sich auf Zusatz von Eisenchlorid im ersten Augenblick grauviolett, darauf wenig intensiv schmutziggrün.

5. Beim Kochen mit salpetersaurem Quecksilberoxyd und salpetrigsaurem Kali färbt sich die Lösung intensiv roth (Millon'sche Reaction).

6. Mit Bromwasser giebt sie einen sich langsam absetzenden Niederschlag.

7. Das Kalksalz liefert bei der Destillation mit Natronkalk Parakresol; dieselbe Zersetzung erleidet die Paraoxyphenylessigsäure, wenn sie in verschlossenen Gefässen mit Pankreassaft in Fäulniss versetzt wird.

B. *Darstellung* der Oxysäuren I. Nach Baumann[1]) werden grosse Mengen (50 Ltr.) frischen Harns zum dünnen Syrup verdunstet, stark mit Essigsäure angesäuert und mit Aether ausgezogen. Der Aether wird wiederholt mit überschüssiger Sodalösung geschüttelt, die alkalische Lösung angesäuert und wieder mit reinem Aether ausgeschüttelt. Vom ätherischen Auszug wird der Aether abdestillirt und die rückständige Lösung auf dem Wasserbade erwärmt, bis der grösste Theil der Essigsäure verjagt ist. Man löst in wenig Wasser, fällt mit neutralem essigsauren Blei aus und schlägt im Filtrate die Oxysäuren mit basisch essigsaurem Blei nieder. Der Niederschlag wird gewaschen, abgepresst, in Wasser vertheilt, mit Schwefelwasserstoff zersetzt und die Lösung wieder mit Aether ausgezogen. Nach dem Verdunsten des Aethers hinterbleibt ein stark saurer gelber Syrup, der meist nach einiger Zeit krystallinisch erstarrt. Tritt auch nach längerem Stehen keine Krystallisation ein, so löst man den Syrup in Wasser, kocht die

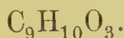
[1]) Baumann, Ztschr. f. physiol. Ch. 6. 191. 1882.

Lösung mit kohlensaurem Baryt und scheidet aus der Lösung der Barytsalze die Säuren von Neuem ab. Die Säuren aus Menschenharn erstarren stets nach einigen Tagen krystallinisch, die aus Hunde- und Pferdeharn krystallisiren schwieriger. Die Krystalle werden abgepresst und aus wenig Wasser umkrystallisirt. Die Paraoxyphenylessigsäure krystallisirt dabei in langen durchsichtigen Prismen und wird durch einmaliges Umkrystallisiren aus viel Benzol völlig rein erhalten. In der wässrigen Mutterlauge befindet sich neben der Hydroparacumarsäure ein Rest Paraoxyphenylessigsäure.

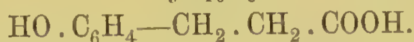
C. *Nachweis.* An diesen Oxysäuren (I.) reiche Harne geben nach Blendermann[1]) die Millon'sche Reaction (A. 5.) schon in der Kälte und nach kurzer Zeit, während sie bei Gegenwart von viel Phenolen und Abwesenheit der Oxysäuren in der Kälte nur ganz allmählich auftritt. Eine sichere Ueberzeugung von der Gegenwart der Oxysäuren überhaupt kann man sich nach Baumann in folgender Weise verschaffen. Man erwärmt etwa 20 cc Harn nach Zusatz von Salzsäure zur Vertreibung der flüchtigen Phenole einige Zeit im Wasserbad (vgl. § 7), zieht die Flüssigkeit nach dem Erkalten dreimal mit Aether aus, schüttelt den Auszug mit schwacher Sodalösung, welche die Oxysäuren aufnimmt, den Rest der Phenole aber im Aether lässt. Die alkalische Lösung wird darauf mit Schwefelsäure schwach angesäuert und abermals mit Aether ausgeschüttelt. Man verdunstet den abgehobenen Aether, löst den Rückstand in wenig Wasser und stellt mit dieser Lösung nach A. 5 die Millon'sche Reaction an. Eine Rothfärbung der Flüssigkeit zeigt die Oxysäuren an, und die Intensität derselben gestattet selbst, wenn man den Rückstand des letzten Aetherauszuges immer in derselben Menge Wasser löst, eine annähernde Schätzung des Gehalts des Harns an Oxysäuren. Etwa beigemengte Skatolkohlensäure beeinträchtigt die Reaction nicht (§ 25. B. 7.).

Um die Paraoxyphenylessigsäure selbst nachzuweisen, muss sie nach B isolirt werden. Zur Erkennung derselben dient die Millon'sche Reaction, ihre Färbung durch Eisenchlorid, das charakteristische Verhalten ihres Bleisalzes und vor Allem ihr Schmelzpunkt.

2. Paraoxyphenylpropionsäure.



$$C_9H_{10}O_3.$$



$$HO.C_6H_4—CH_2.CH_2.COOH.$$

Syn.: Hydroparacumarsäure.

A. *Eigenschaften.* 1. Nach den Untersuchungen von Hlasiwetz und Malin, Buchanan und Glaser und von Baumann[2]) krystallisirt die Hydroparacumarsäure in kleinen wohlausgebildeten

---

[1]) Blendermann, Ztschr. f. physiol. Ch. **6**. 245

[2]) Hlasiwetz, Ann. d. Chem. u. Pharm. **142**. 358. 1867. — Buchanan u. Glaser, Ztschr. f. Chem. [2] **5**. 197. 1869. — Baumann, Ztschr. f. physiol. Ch. **4**. 305. 1880; Ber. d. chem. Gesellsch. **13**. 281.

monoklinischen Prismen, schmilzt bei 125°, destillirt in stärkerer Hitze, wie es scheint, unzersetzt, und ist mit Wasserdämpfen in Spuren flüchtig.

2. Sie löst sich leicht in Wasser, in Alkohol und in Aether; in Benzol löst sie sich schwer, scheidet sich aber beim Erkalten der Benzollösung langsamer und weniger vollständig wieder aus, wie die Paraoxyphenylessigsäure.

3. Ihre Alkalisalze sowie das Kalk- und Barytsalz sind in Wasser sehr leicht löslich; das Ammonsalz bildet eine strahlige Krystallmasse, das Barytsalz $(C_9H_9O_3)_2Ba$ Krystallwarzen. — Die nicht zu verdünnte Lösung des Ammonsalzes giebt mit schwefelsaurem Zink einen krystallinischen Niederschlag, der nach dem Umkrystallisiren perlmutterglänzende Tafeln und Plättchen darstellt; das Salz besitzt die Zusammensetzung $(C_9H_9O_3)_2Zn + 2H_2O$ und löst sich in 130 Theilen kaltem Wasser, leichter in heissem. Die verdünnte wässrige Lösung scheidet bei längerem Erhitzen einen flockigen Niederschlag von basischem Salz ab. — Das Kupfersalz $(C_9H_9O_3)_2Cu + 2H_2O$ setzt sich auf Zusatz von Kupferchlorid zu einer nicht zu verdünnten Lösung eines Alkalisalzes der Säure nach einiger Zeit in dunkelgrünen, glänzenden, kurzen Prismen ab; es löst sich schwer in Wasser, scheidet beim Kochen schwarzes Kupferoxyd ab, reducirt aber Kupferoxyd in alkalischer Lösung nicht. — Das Silbersalz entsteht als weisser amorpher Niederschlag; es ist ziemlich leicht löslich; aus verdünnten oder warmen Lösungen scheidet es sich in sehr kleinen platten Nadeln aus. — Auch salpetersaures Quecksilberoxydul giebt mit der Lösung eines Salzes der Säure einen weissen Niederschlag. — Essigsaures Blei erzeugt im Ammonsalz einen weissen krystallinischen Niederschlag, der sich in überschüssiger Bleizuckerlösung wieder löst, in Bleiessig dagegen fast nicht.

4. Eisenchlorid färbt die kalt gesättigte wässrige Lösung der Säure deutlich blau, die Flüssigkeit trübt sich milchig und setzt einen harzartigen Körper ab, während das Filtrat noch blau gefärbt erscheint. — Sie färbt sich bei der Millon'schen Probe selbst in starker Verdünnung noch intensiv roth. — Bromwasser giebt in der Lösung eine milchige Trübung. — Die kalt gesättigte Lösung der Säure färbt sich mit einigen Tropfen concentrirter Salpetersäure unter schwachem Erwärmen roth, trübt sich dann und scheidet in einigen Stunden schöne lange Nadeln einer Nitroverbindung ab, die sich in Ammoniak mit tief rother Farbe lösen.

B. *Darstellung.* Die Hydroparacumarsäure findet sich in der wässrigen Mutterlauge der Paraoxyphenylessigsäure neben einem Rest dieser (dieser § 1. 1. B.). Man verdampft sie zur Trockne und kocht den Rückstand mit einer zur völligen Lösung ungenügenden Menge Benzol. Beim Erkalten der Lösung krystallisirt die Hydroparacumarsäure noch gemengt mit Paraoxyphenylessigsäure aus. Ein Verfahren zur Trennung beider Säuren ist noch nicht bekannt.

C. *Nachweis.* Der Nachweis der Paraoxyphenylpropionsäure gestaltet sich ähnlich dem der Paraoxyphenylessigsäure; von dieser lässt sie sich am Sichersten durch ihren Schmelzpunkt unterscheiden.

II. Oxymandelsäure.



$C_8H_8O_4$



$HO . C_6H_4 . CH(OH) . COOH.$

Syn.: Paraoxyphenylglykolsäure.

Die Constitution der Säure ist nicht sicher festgestellt, doch ist die angegebene nach dem chemischen Verhalten der Säure, ihrer genetischen Verwandtschaft mit der Paraoxyphenylessigsäure, der Oxyhydroparacumarsäure und dem Tyrosin wegen sehr wahrscheinlich.

A. *Vorkommen.* Schultzen und Riess haben zuerst die von ihnen als Oxymandelsäure bezeichnete Säure in mehreren Fällen von acuter Leberatrophie im Harn aufgefunden. In zwei Fällen von acuter Phosphorvergiftung beim Menschen traf Baumann[1]) eine mit ihr identische oder ihr doch sehr ähnliche Säure an.

B. *Eigenschaften.* 1. Die Oxymandelsäure bildet zolllange, farblose, seidenglänzende, sehr biegsame Nadeln. In reinem Zustande schmilzt sie bei 162⁰. Sie enthält ($^1/_2 H_2O$?) Krystallwasser, welches schon an der Luft, vollständig bei 130⁰ entweicht. In warmem Wasser ist sie leicht löslich, in kaltem weniger, viel schwerer als die Paraoxyphenylessigsäure und die Hydroparacumarsäure (Baumann), in Alkohol und Aether löst sie sich leicht, dagegen nicht oder nur wenig in heissem Benzol. Mit Säuredämpfen ist sie nicht flüchtig.

2. Ihr Kalksalz $(C_8H_7O_4)_2Ca$, 2 H_2O krystallisirt in farblosen glasglänzenden Nadeln. — Durch Bleizucker wird sie nicht gefällt, wohl aber durch Bleiessig.

3. Sie giebt die Millon'sche Reaction (dieser § I. 1. A. 5.).

4. Beim Erhitzen für sich oder mit Kalkhydrat im Glasrohr liefert sie Phenol.

C. *Darstellung* und *Nachweis.* a. Baumann fand die Säure in dem in viel heissem Benzol unlöslichen Antheil der rohen Oxysäuren (dieser § I. 1. B.). Dieser Antheil lieferte beim Umkrystallisiren aus Wasser eine kleine Menge nadelförmiger Krystalle, welche bei 167—168⁰ schmolzen, die Millon'sche Reaction gaben und sich bei schnellem Erhitzen unter Bildung von Phenol zersetzten.

b. Schultzen und Riess gewannen die Säure nach folgendem Verfahren. Der Harn wurde durch Eindampfen von seinem Gehalt an Tyrosin und Leucin befreit, die Mutterlauge mit absolutem Alkohol gefällt, die alkoholische Lösung verdunstet und der syrupöse Rückstand nach Zusatz von verdünnter Schwefelsäure mit Aether vollständig erschöpft. Die vereinigten Aetherextracte hinterliessen beim Verdunsten einen braunen dünnflüssigen Rückstand, aus welchem sich neben braunen öligen Tropfen lange dünne farblose Nadeln ausschieden. Durch Behandeln mit Wasser lösten sich die Nadeln auf, während die Tropfen grösstentheils ungelöst blieben. In dem schwach gelblich gefärbten Filtrat bewirkte Bleizuckerlösung nur einen geringen flockigen Niederschlag, wodurch die Flüssigkeit entfärbt wurde. Das wasserhelle Filtrat gab mit Bleiessig sogleich einen reichlichen flockigen Niederschlag, der sich nach kürzerem Stehen zu einem schweren körnigen Krystallpulver verdichtete. Die Verbindung wurde nach dem Waschen in Wasser suspendirt, mit Schwefelwasserstoff zerlegt und das Filtrat zur Krystallisation verdunstet.

---

[1]) O. Schultzen u. L. Riess, Ann. d. Charité-Krankenhauses **15**; Chem. Centralbl. 1869. 680. — Baumann, Ztschr. f. physiol. Chem. **6**. 192. 1882.

III. Oxyhydroparacumarsäure.


$C_9H_{10}O_4$.


$HO . C_6H_4 . C_2H_3(OH) . COOH$.

Syn.: Paraoxyphenylmilchsäure.

A. *Vorkommen.* Die Säure ist von Blendermann[1]) nach Verfütterung von Tyrosin an Kaninchen im Harn derselben aufgefunden worden.

B. *Eigenschaften.* 1. Die Säure scheint verschieden zu sein von der von Erlenmeyer u. Lipp[2]) synthetisch dargestellten. Die Säure aus dem Harn krystallisirt aus Wasser mit $^1/_2 H_2O$ in centimeterlangen seidenglänzenden Nadeln. Ueber Schwefelsäure verwittern diese; bei 105—110° verlieren sie das Krystallwasser vollständig. Sie schmelzen wie die Oxymandelsäure bei 162—164° unter Bräunung.

2. Mit Bromwasser giebt ihre Lösung Trübung und einen geballten amorphen Niederschlag. Mit Eisenchlorid färbt sie sich nicht, dagegen giebt sie die Millon-sche Reaction so stark wie die anderen Oxysäuren (d. § I. 1. A. 5.).

C. *Darstellung.* Die rohen Oxysäuren (d. § I. 1. B.) wurden in Wasser gelöst und die Lösung verdunstet. Nachdem Krystalle von sich zuerst ausscheidendem Tyrosinhydantoin entfernt worden waren, krystallisirte beim Stehen der Lösung über Schwefelsäure die Säure in ungefärbten Nadeln aus. Dieselben wurden aus wenig Wasser umkrystallisirt.

IV. Gallussäure.


$C_7H_6O_5$.


$(HO)_3 . C_6H_2 . COOH$.

A. *Vorkommen.* Sie findet sich nach Baumann[3]) zuweilen im Pferdeharn in deutlich nachweisbarer Menge; ihr Auftreten im Harn ist ohne Zweifel durch die mit der Nahrung aufgenommenen Gerbstoffe bedingt.

B. *Eigenschaften.* 1. Seidenglänzende Nadeln oder trikline Prismen mit 1 Mol. H_2O. Sie schmilzt bei 222—240° unter Zersetzung zu Pyrogallol $C_6H_3(OH)_3$ und Kohlensäure, löst sich in 130 Theilen kaltem und in 3 Theilen siedendem Wasser, leicht in absolutem Alkohol, schwerer in Aether.

2. Die Säure selbst wird durch Bleizucker gefällt.

3. Eine Lösung der Säure bräunt sich mit Alkalien und reducirt Kupferhydrat in alkalischer, Silberoxyd in ammoniakalischer Lösung. Sie giebt mit Eisenchlorid (und anderen Eisenoxydsalzen) unter Reduction desselben zu Eisenoxyduloxyd einen blauschwarzen im Ueberschuss des Eisenchlorids mit grüner Farbe löslichen Niederschlag. Der Bleiniederschlag wird durch Kalilauge schön carminroth und löst sich im Ueberschuss der Lauge mit himbeerrother Farbe (Harnack[4]).

4. Gegen Millon'sches Reagens verhält sich die Gallussäure so, dass man die Reaction bei oberflächlicher Betrachtung mit einer ächten Millon'schen verwechseln könnte. Sie giebt mit dem fertigen Reagens und ebenso mit salpetersaurem Quecksilberoxyd allein einen ziegelrothen Niederschlag, der aber beim Kochen graubraun wird; setzt man der (schwach gelben) heissen Flüssigkeit, welche nach dem Zusatz von Mercurinitrat allein entstanden ist, salpetrigsaures Kali zu, so wird der Niederschlag grau und schwammig und die Flüssigkeit rothorange, selbst dunkelroth. — Versetzt man den ziegelrothen Niederschlag in der Kälte mit Kaliumnitrit, so wird er weiss; kocht man darauf, so erhält man, je nach den gegenseitigen Mengenverhältnissen, einen ockergelben oder braunrothen Niederschlag in einer gelben oder dunkel rothgelben Flüssigkeit (Huppert).

---

1) H. Blendermann, Ztschr. f. physiol. Ch. **6**. 256. 1882.
2) E. Erlenmeyer u. A. Lipp, Ann. d. Chem. **219**. 226. 1883.
3) Baumann, Ztschr. f. physiol. Ch. **6**. 193.
4) E. Harnack, Arch. d. Pharm. **234**. 517; Chem. Centralbl. 1896. 2. 804.

C. *Darstellung.* Die rohen Oxysäuren (d. § I. 1. B.) aus Pferdeharn werden mit Bleizucker ausgefällt, der Niederschlag ausgewaschen, mit Salzsäure oder Schwefelsäure zerlegt und die Flüssigkeit mit Aether ausgeschüttelt. Der Rückstand, welchen die ätherische Lösung beim Verdunsten hinterlässt, wird in Wasser gelöst und die Lösung zur Krystallisation verdunstet.

V. Alkaptonsäuren.

Harne, welche Alkaptonsäure enthalten, sind ausgezeichnet durch bedeutende Reductionsfähigkeit, ohne die übrigen Eigenschaften der zuckerhaltigen Harne zu besitzen. Aus solchen Harnen sind zwei Säuren, welchen diese Eigenschaft zukommt, isolirt worden, die Homogentisinsäure und die Uroleucinsäure.

Boedeker, welcher auf eine der Säuren zuerst aufmerksam machte, hat sie nur in unreinem Zustand vor sich gehabt; die Substanz war amorph und enthielt noch Stickstoff; er nannte sie Alkapton. Ebstein und Müller gewannen aus Harn einen dem Alkapton sehr ähnlichen Körper in rechtwinkligen Säulen (aus Wasser), hielten ihn aber für Brenzkatechin. W. Smith gelangte zu der Ansicht, die Säure sei Protokatechusäure, wogegen Kirk u. A. geltend machte, dass die Protokatechusäure die Fehling'sche Flüssigkeit nicht reducirt, während es die fragliche Säure thut; er gab ihr deshalb einen anderen Namen: Urrhodinsäure, doch war diese Säure noch keineswegs rein, sondern noch von phenolartiger Substanz begleitet. Marshall hat die Homogentisinsäure als Glykosursäure beschrieben (Baumann), und Kirk im Verein mit Gibson die Uroleucinsäure in analysirbarem Zustand dargestellt. Danach entdeckten Wolkow u. Baumann[1]) die Homogentisinsäure und unterwarfen sie einer eingehenden Untersuchung. Die ältere Literatur über die Alkaptonsäuren ist von Wolkow u. Baumann zusammengestellt.

Die Homogentisinsäure ist seitdem oft aufgefunden worden, auch in dem Fall von Kirk von mir[2]), die Uroleucinsäure dagegen hat man nicht wieder beobachtet, hauptsächlich wohl deshalb, weil sie nicht in so einfacher Weise darstellbar ist, wie die Homogentisinsäure.

Vorkommen. Die Alkaptonsäuren sind ebenso häufig im Harn von Kindern als von Erwachsenen beobachtet worden, einige Male bei Geschwistern. In der Regel hält die Alkaptonurie das ganze Leben lang an. Gesundheitsstörungen sind mit ihr nicht verbunden, sie kann aber auch bei Kranken vorhanden sein. Die im Harn enthaltene Menge ist

---

[1]) Boedeker, Ztschr. f. rat. Med. [3] **7.** 138. 1859; Ann. d. Ch. u. Pharm. **117.** 98. 1861. — W. Ebstein u. J. Müller, Virchow's Archiv **62.** 554. 1875. — W. Smith, Dublin Journal of med. Sc. **2.** 1882. 465; Virchow-Hirsch's Jahresb. 1882. **1.** 166. — R. Kirk, Brit. med. Journ. November 27. 1886. 1017. — J. Marshall, Amer. Journ. of Pharm. **59.** 131. March 1887; Ztschr. f. analyt. Ch. **27.** 120. 1888; Chem. Centralbl. 1887. 724; Med. News, Jan. 8. 1887; Jahresber. f. Thierch. 1887. 225. — Baumann, Ztschr. f. physiol. Ch. **18.** 306. — Rob. Kirk, Brit. med. Journ. Aug. 4. 1888. 232; Journ. of Anat. and Physiol. **23.** 69. — M. Wolkow u. E. Baumann, Ztschr. f. physiol. Ch. **15.** 228. 1891.

[2]) H. Embden, Ztschr. f. physiol. Ch. **17.** 182. 1892; **18.** 304. — A. Geyger, Pharm. Zeitung **37.** 488; Chem. Centralbl. 1892. **2.** 658. — L. Garnier u. G. Voirin, Arch. de Physiologie [5] **4.** 225. 1892. — H. V. Ogden, Ztschr. f. physiol. Ch. **20.** 280. 1894. — A. Slose, Ann. de la Soc. roy. des sc. méd. et natur. de Bruxelles **4.** 1895; Centralbl. f. d. med. Wiss. 1895. 684. — W. v. Moraczewski, Centralbl. f. innere Med. 7. 1896. — P. Stange, Virchow's Arch. **146.** 86. 1896. — Huppert, Ztschr. f. physiol. Ch. **23.**

nach Bestimmungen von Wolkow u. Baumann, Ogden, sowie Stange gering (0,2—0,4 % oder 3—6 g in der Tagesmenge), bei ausschliesslicher Fleischkost (um ein Viertel bis über das Doppelte) grösser als bei gemischter Kost (Wolkow u. Baumann, Ogden). Gährungswidrige Substanzen und Abführmittel (Kefyr, Terpentinöl, Ricinusöl, Magnesia usta, Karlsbader Salz nach Embden und nach Stange) sind ohne Einfluss auf die Menge, ebenso der Gebrauch von Phenylessigsäure und von Phenylamidoessigsäure auf die Menge der Homogentisinsäure (Embden), Zufuhr von Tyrosin steigert sie aber nach Wolkow u. Baumann, sowie Embden beträchtlich; von 10 g verabreichtem Tyrosin werden ungefähr 7,5 g in Homogentisinsäure übergeführt. Gesunde scheiden von genommener Homogentisinsäure nur wenig wieder unverändert aus; bei einer mit Alkaptonurie behafteten Person kamen aber von 10 g genommener Homogentisinsäure 7,5 g im Harn wieder zum Vorschein (Embden).

Die erwachsenen Personen, in deren Harn Wolkow u. Baumann sowie Embden die Homogentisinsäure auffanden, waren Geschwister. — Moraczewski sah die Alkaptonurie bei einem Fall von Tuberkulose vor dem Tode auftreten, Geyger intermittirend bei Diabetes. — Der Kranke von Boedeker litt an einem Gehirntumor und war diabetisch, in dem Fall von Slose bestand Pyonephrose. — Nach der Einfuhr von Gentisinsäure oder Hydrochinon trat nach Likhatscheff[1]) und nach der von grossen Gaben Salicylsäure oder Phenol nach Kirk keine Alkaptonurie auf. — Kirk hat die Alkaptonsäuren im Harn vieler Kranken, sowie im Harn von Pferden und Kühen vergeblich gesucht.

B. *Eigenschaften.* Die Alkaptonsäuren haben einige Eigenschaften mit einander gemein.

1. Sie bilden durchsichtige Prismen oder Nadeln, welche an der Luft unter Verlust ihres Krystallwassers schnell milchweiss werden und zerfallen. Sie lösen sich leicht in Wasser, Alkohol und Aether. Beide Säuren sind einbasisch und optisch inactiv.

2. Ihre Lösungen werden bei längerem Stehen an der Luft dunkel; auf Zusatz von Natronlauge oder Ammoniak oder Alkalicarbonat bräunen sich die Lösungen unter Aufnahme von Sauerstoff. Die Lösungen reduciren alkalische Kupferoxydlösung stark schon in der Kälte, schneller bei gelindem Erwärmen, neutrale und schneller ammoniakalische Silberlösung schon in der Kälte, dagegen Wismuthoxyd bei Gegenwart von freiem Alkalihydrat nur in concentrirter Lösung, und dann auch nur schwach; eine von Brune[2]) untersuchte Säure reducirte auch Pikrinsäure nicht.

3. Mit Bierhefe gähren sie nicht. Sie sind optisch inactiv.

4. Beide Säuren geben in ganz gleicher Weise mit Millon'schem Reagens in der Kälte langsam einen citronengelben Niederschlag, der

---

1) A. Likhatscheff, Ztschr. f. physiol. Ch. 21. 422. 1895.

2) Barton A. Brune, Boston med. Journ. December 1886, Jan. 1887; Virchow-Hirsch's Jahresber. 1887. 1. 253.

in der Kälte allmählich orange, beim Erwärmen sogleich hell ziegelroth wird (Baumann u. Wolkow, Huppert[1]).

5. Sie färben sich beide vorübergehend mit Eisenchlorid, die Homogentisinsäure blau, die Uroleucinsäure grün.

6. Die Homogentisinsäure wird aus verdünnten (1 proc.) Lösungen durch die Bleiacetate gefällt, die Uroleucinsäure erst aus concentrirten Lösungen (mit mehr als 2 %).

Ergänzungen der Eigenschaften im Folgenden.

1. Homogentisinsäure.



$C_8H_8O_4$.



$C_6H_3(OH)_2 . CH_2 . COOH$.

Dioxyphenylessigsäure, Hydrochinonessigsäure; OH : OH : $CH_2 . COOH$ in der Stellung 1 : 4 : 5.

Diese Ansicht von der Constitution der Säure gründet sich auf die unter 5 und 7 angeführten Reactionen, ferner auf den Umstand, dass im Harn eines Hundes nach Verabreichung von Homogentisinsäure neben dieser Säure eine Substanz auftrat, welche Toluhydrochinon $C_6H_3(OH)_2CH_3$ sein konnte und auf die von Baumann u. Fränkel[2]) vollzogene Ueberführung des Gentisinaldehyds in die Homogentisinsäure. Da im Tyrosin $C_6H_4(OH) - CH_2 . CH(NH_2) . COOH$ das Hydroxyl und die α-Amidopropionsäure die Parastellung (1 : 4) einnehmen, so muss im Tyrosin bei der Umwandlung derselben zu Homogentisinsäure (durch Gährung) eine Umlagerung stattfinden. — Die Eigenschaften hauptsächlich nach Wolkow u. Baumann.

1. Die Säure verliert das eine Mol. Krystallwasser schon an der Luft, vollständig über Schwefelsäure in 24 St.; bei 100° verliert sie ein weiteres Mol. H_2O unter Anhydridbildung. Wenig über 100° sublimiren feine in Wasser unlösliche Nadeln des Anhydrids. Schmelzpunkt der Säure 146,5—147°.

2. Die Säure ist auch in der Wärme fast unlöslich in Chloroform, in Benzol, in Toluol, und nach Marshall auch in Petroläther. Sie kann am Besten aus Wasser umkrystallisirt werden, aber unter grossen Verlusten. Die wasserfreie Säure erhält man in durchsichtigen Plättchen auf Zusatz von überschüssigem Chloroform zu einer Lösung der Säure in wenig warmem absoluten Alkohol bei langsamem Erkalten.

3. Das Bleisalz $(C_8H_7O_4)_2Pb, 3 H_2O$ erhält man in farblosen oder bräunlichen durchsichtigen glänzenden Prismen auf Zusatz von Bleizucker oder Bleiessig zu einer nahe bis zum Sieden erhitzten 1 proc. Lösung der Säure; beim Erkalten krystallisirt das Salz aus, vollständiger aus der mit Bleiessig als aus der mit Bleizucker versetzten Lösung. Auch eine mit Soda neutralisirte Lösung der Säure giebt mit Bleiacetat dasselbe Salz. Es löst sich bei 20° in 675 Thlen Wasser, in Bleiacetatlösung etwas leichter als in Wasser und zersetzt sich bei dem Versuch, es umzukrystallisiren. In Alkohol und in Aether ist es unlöslich. Das Krystallwasser entweicht nicht an der Luft, aber über

---

1) Huppert, Ztschr. f. physiol. Ch. **23**.
2) E. Baumann u. S. Fränkel, Ztschr. f. physiol. Ch. **20**. 219. 1894.

Schwefelsäure oder bei 100°. Schmilzt bei 214—215° unter vollständiger Schwärzung.

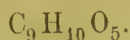
4. Der Aethylester $C_8H_7O_4 . C_2H_5$ bildet farblose Prismen, ist schwer löslich in kaltem, leichter in heissem Wasser, leicht in Alkohol und in Aether, schwer in Benzol und in Chloroform. Er bildet sich schon beim Destilliren der ätherisch-alkoholischen Lösung, ist also in der rohen Säure enthalten, entgeht aber der Fällung mit dem Bleiacetat.

5. Tritt Luft zu dem bei der Sublimation gebildeten Dampf, so färbt sich das Sublimat, wie das Hydrochinon, blau.

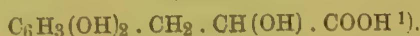
6. Die Blaufärbung, welche auf Zusatz von wenig Eisenchlorid zur Lösung der Säure eintritt, geht schnell vorüber, kann aber bei Gegenwart einer genügenden Menge Säure auf erneuten Zusatz von Eisenchlorid wiederholt erhalten werden. Die Reaction ist sehr empfindlich und tritt noch bei einer Verdünnung von 1 : 4000 ein. — Beim Kochen der Säure mit einer concentrirten Eisenchloridlösung tritt der Geruch nach Chinon ein.

7. Beim Schmelzen mit Kalihydrat geht die Säure in Gentisinsäure (Hydrochinoncarbonsäure) $C_6H_3(OH)_2COOH$ und in Hydrochinon über.

2. Uroleucinsäure.



$C_9H_{10}O_5$.



$C_6H_3(OH)_2 . CH_2 . CH(OH) . COOH$ [1]).

1. Nach Kirk[2]) besitzt die (unreine) Uroleucinsäure einen schwachen aromatischen Geruch. Sie schmilzt bei 130,3° zu einer dunklen Flüssigkeit, welche in etwas höherer Temperatur kocht, ohne selbst bei 205° einen Geruch zu entwickeln. Die Krystalle färben sich schon bei 60° dunkler.

2. Von der Säure lösen sich nach Kirk 20.5 Theile in 100 Theilen Aether, 17.7 in 100 Alkohol, 4 % in kaltem, 5 % in heissem Wasser; in Chloroform und in Petroläther ist sie unlöslich, in Glycerin leicht löslich.

3. Neutrales essigsaures Blei fällt nach Kirk eine 0,25 proc. Lösung der Säure gar nicht und giebt erst mit einer 2 proc. Lösung einen schwachen Niederschlag. Man erhält das Bleisalz, wenn man die concentrirte mit Bleiacetat ausgefällte Lösung in der Kälte mit Bleizucker sättigt. Es löst sich etwas in kaltem, leicht in heissem Wasser, und in verdünntem Glycerin, nicht in Alkohol, Aether, Benzol, Toluol, Petroläther.

4. Die alkalische Lösung hält sich unter Luftabschluss unverändert, bei Luftzutritt absorbirt eine 0.5 proc. Lösung nach Kirk fast ihr Volumen Sauerstoff. Die durch Uroleucinsäure hervorgerufene Färbung ist nach Kirk 5 mal so stark, als die durch Gallussäure oder Tannin erzeugte; Brenzkatechin färbt 3 mal so stark als Uroleucinsäure, die Färbung ist aber zuerst grün und wird erst später röthlich braun.

---

1) Huppert, Ztschr. f. physiol. Ch. 23.

2) Kirk, Brit. med. Journal 1889. 2. 1149.

5. Nach Kirk reducirt die Säure Fehling'sche Flüssigkeit ungefähr fünf Mal so stark als Traubenzucker. Alkalische Wismuthlösung wird nur dann reducirt, wenn die Säurelösung mindestens 0,5 proc. ist; da der Harn nicht so viel von der Säure enthält, reducirt er Wismuthoxyd nicht. Die Säure reducirt ferner ausser Silbernitrat auch Merkurinitrat, Chromsäure und Permanganat, dieses in Anwesenheit von Salzsäure; die Chromsäure giebt neben grünem Chromoxyd einen rothen Niederschlag.

6. Die Krystalle der Uroleucinsäure werden nach Kirk von Salpetersäure sofort unter Entwickelung rother Dämpfe angegriffen. Das gelbe teigige Produkt löst sich in Wasser und in Aether mit gelber Farbe; die wässrige Lösung hinterlässt einen amorphen Rückstand, die ätherische nadel- oder säulenförmige Krystalle. Beide Rückstände lösen sich mit saurer Reaction in Wasser, die Lösungen werden durch Alkali etwas dunkler, und reduciren Fehling'sche Flüssigkeit nicht mehr; sie geben mit beiden Bleiacetaten gelbe Niederschläge, und werden durch Barymhydrat, in sehr geringem Grade auch durch Kalkwasser gefällt.

7. Eine Spur Chlor färbt die Krystalle blau, viel Chlor bleicht sie vollständig. Die blauen Krystalle liefern keine blaue Lösung, sondern nur eine etwas stärker gelbe als vorher. Leitet man Chlor in eine Lösung der Säure, so wird sie stärker gelb.

8. Schichtet man nach Kirk eine sehr verdünnte Eisenchloridlösung auf eine selbst nur 0,25 proc. Lösung der Säure, so wird die Grenzschicht grün, die Färbung verschwindet jedoch sofort, wenn sich die beiden Flüssigkeiten mischen, und ist durch kein Verhältniss zwischen Säure und Reagens beständig zu machen. Tropft man ein wenig Eisenchlorid auf die Krystalle selbst, so tritt Rothfärbung ein, welche durch mehr Eisenchlorid einem unbeständigen Grün Platz macht. — Eine starke Lösung der Säure erscheint, während das Grün verschwindet, bräunlich oder röthlich und auf Zusatz von mehr Eisenchlorid endlich gelb, aber nicht stärker gelb wie Wasser. — Alkalische Eisenchloridlösung färbt die Säure roth.

9. Die Uroleucinsäure schützt Fleisch sehr gut vor Fäulniss (Kirk[1]).

C. *Darstellung der Säuren.*

Zunächst sind dem Harn die Alkaptonsäuren zu entziehen. Man kann dazu den Harn direkt oder nach dem Eindampfen verwenden. Der native Harn wird nach Wolkow und Baumann auf das Liter mit 125—150 cc 12 proc. Schwefelsäure versetzt und drei Mal mit seinem Volumen Aether ausgeschüttelt, wodurch man die Säuren bis auf einen kleinen Rest (ungefähr 1 $^0/_0$) gewinnt. Vortheilhafter ist es, den Harn vor der Behandlung mit Aether zu concentriren, doch darf das nur geschehen, nachdem der Harn mit Säure versetzt worden ist, wenn man nicht Verluste erleiden will. Kirk säuert den Harn mit Salzsäure an und dampft ihn auf 0,1 Vol. ein, Embden[2]) versetzt den Harn mit $^1/_5$ seines Volumens verdünnter Schwefelsäure und verdampft ihn auf den sechsten Theil.

1. Von dem ätherischen Auszug wird der Aether abdestillirt, der Rückstand, welcher bei längerem Stehen krystallinisch erstarrt, wird in viel Wasser gelöst, die Flüssigkeit bis nahe zum Sieden erhitzt und reichlich mit einer concentrirten Bleiessiglösung versetzt. Ein harziger

---

[1]) R. Kirk, Brit. med. Journ. Nov. 23. 1889. 1149.

[2]) Wolkow und Baumann, a. a. O. 241. — Embden, a. a. O. **17**. 190.

oder amorpher flockiger Niederschlag, welcher dabei entsteht, wird sogleich durch ein Faltenfilter abfiltrirt. Beim Erkalten des Filtrats scheidet sich das Bleisalz der Homogentisinsäure in grossen prismatischen Krystallen aus; nach 24 Stunden kann das Salz abfiltrirt und mit wenig kaltem Wasser gewaschen werden.

Wolkow und Baumann lösen die aus der Tagesmenge Harn eines Erwachsenen (1,5—2 Liter) gewonnene rohe Säure in 250 cc Wasser und versetzen die Lösung mit 30 cc einer 20 proc. Bleizuckerlösung. Dabei entgeht aber ein grosser Theil der Homogentisinsäure der Fällung (Huppert) und es ist daher, wie auch Ogden fand, besser sich des basisch essigsauren Bleies zu bedienen. Ist die Lösung der rohen Säure verdünnt, so hat man nicht zu befürchten, dass Uroleucinsäure mitgefällt wird. Umkrystallisiren lässt sich das Salz nicht, da es sich bei dem Versuch, es zu lösen, zersetzt. Reinigen lässt sich das Salz nur, wie schon Kirk für die Uroleucinsäure angab und wie Embden[1]) empfiehlt, dadurch, dass man die Säure wiederholt mit Bleiacetat fällt. Man zerlegt das fein zerriebene Salz unter Wasser mit Schwefelwasserstoff, kocht aus dem Filtrat den Schwefelwasserstoff weg und fällt wie vorher mit Bleiessig. Entsteht hier zuerst auch ein amorpher Niederschlag, so ist dieser abzufiltriren, bevor das Salz auszukrystallisiren beginnt.

Marshall hat den Harn mit dem halben Volumen dreibasisch essigsaurem Blei von 1,23—1,24 Dichte gefällt, den Niederschlag mit 45 proc. Weingeist gewaschen, mit Schwefelwasserstoff zerlegt, das Filtrat nach dem Wegkochen des Schwefelwasserstoffs siedend mit kohlensaurem Blei gesättigt und die Lösung zur Krystallisation gebracht. Marshall scheint aber ein Gemeng beider Alkaptonsäuren erhalten zu haben.

Zur Darstellung der Säure selbst wird das Bleisalz unter Wasser mit Schwefelwasserstoff behandelt, das Filtrat vom Schwefelwasserstoff durch Kochen befreit und auf dem Wasserbad eingedampft, bis es sich dunkler zu färben beginnt. Dann concentrirt man die Flüssigkeit vollends im Vacuum über Schwefelsäure. Die ausgeschiedenen grossen Krystalle können dann noch (nach Wolkow und Baumann am Besten aus Wasser, aber unter grossem Verlust) umkrystallisirt werden.

2. Die Uroleucinsäure ist in der mit basisch essigsaurem Blei ausgefällten Lösung zu suchen, weil man dann sicher ist, sie frei von Homogentisinsäure zu erhalten. Man behandelt sie mit Schwefelwasserstoff, entfernt den Schwefelwasserstoff aus dem Filtrat durch Kochen und concentrirt zuerst im Wasserbad, zuletzt im trocknen Vacuum. Von zugleich abgeschiedenem braunen Syrup trennt man die Krystalle durch Aether; die ätherische Lösung setzt zuerst die amorphe begleitende Substanz ab, von welcher sich die ätherische Säurelösung leicht abgiessen lässt. Zuletzt hat man die Krystalle noch umzukrystallisiren (Huppert).

Kirk[2]) löst die rohe Alkaptonsäure in wenig warmem Wasser und versetzt die entstandene dunkelrothe Lösung mit so viel einer gesättigten Bleizuckerlösung

---

1) Huppert, Zeitschr. f. physiol. Ch. 23. — Ogden, daselbst 20. 282. — Kirk, Brit. med. Journ. a. a. O. — Embden, daselbst 17. 188.

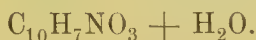
2) Kirk, Journ. of Anat. und Physiol. a. a. O. 78.

bis die von dem dunklen Niederschlag getrennte Flüssigkeit gelb, allenfalls bräunlich geworden ist. Diese wird dann nach dem Entfernen des dunklen Niederschlags, um weitere Verdünnung zu vermeiden, mit etwas festem essigsauren Blei verrieben, wobei bald ein rahmfarbiger Niederschlag entsteht, welcher auf dem Filter bis zum Verschwinden der sauren Reaction gewaschen und unter Wasser mit Schwefelwasserstoff zerlegt wird. Das Filtrat wird entweder im trocknen Vacuum verdunstet oder mit grossen Mengen Aether extrahirt. Zum Verdunsten der letzten Reste Aether soll man die Lösung in dünner Schicht ausbreiten und darf die Temperatur nicht über 30° steigen lassen. Die erhaltenen Krystalle werden aus Aether umkrystallisirt, oder, wenn sie gefärbt sind, durch nochmaliges Fällen mit Bleiacetat gereinigt.

D. *Nachweis.* Alkaptonsäure enthaltender Harn ist frisch entleert entweder sehr blass oder eigenthümlich braun, färbt sich an der Luft, namentlich bei alkalischer Reaction, unter starker Sauerstoffabsorption tiefer braun und hinterlässt in der Wäsche dunkelrothe oder braune Flecke. Er reducirt Fehling'sche Flüssigkeit und ammoniakalische Silberlösung, aber nicht Wismuthoxyd oder Pikrinsäure bei Gegenwart von freiem Alkalihydrat Durch den negativen Ausfall der letzten zwei Proben, sein starkes Dunkeln an der Luft, ferner durch seine Gährungsunfähigkeit und die optische Inactivität unterscheidet er sich von einem zuckerhaltigen Harn.

Diese Reactionen sind jedoch denen solcher Harne sehr ähnlich, welche Brenzkatechin, Hydrochinon oder Gallussäure enthalten. Entscheidend ist nur die Reindarstellung der Substanz. Die Homogentisinsäure lässt sich am Einfachsten durch Bestimmung des Wassergehaltes ihres Bleisalzes erkennen; es giebt bei 100° 9,08 % ab. Die Bestimmung des Schmelzpunktes ihres Bleisalzes (214—215°) ist, so einfach sie erscheint, doch darum schwierig, weil sich das Salz vor dem Schmelzen vollständig schwärzt und die Verflüssigung desselben dann schwer zu erkennen ist. Die Ermittelung des Bleigehalts (durch wiederholtes Abrauchen mit Schwefelsäure bis zur Gewichtsconstanz) ist langwierig und für Ungeübte nicht leicht. Neben der Bestimmung des Wassergehalts des Bleisalzes kann man noch den Schmelzpunkt der freien Säure (145—147°) ermitteln. Die Uroleucinsäure lässt sich am Besten an ihrem Schmelzpunkt (190—193°) erkennen.

VI. Kynurensäure.



$C_{10}H_7NO_3 + H_2O$.

Syn. Oxychinolincarbonsäure $HO . C_9H_5N . COOH$.

A. *Vorkommen.* Die Kynurensäure ist von Liebig als Bestandtheil des Hundeharns entdeckt worden; ein Hund scheidet in einem Tage einige Centigramm bis mehrere Gramme aus, am Meisten nach Verfütterung von Fleisch, weniger nach Milch, am Wenigsten nach Brod (Naunyn und Riess, Aug. Schmidt). Auch

nach Verfütterung von ausgelaugtem Fleisch tritt sie auf (Rubner[1]). Nach Hofmeister scheint sie im Menschenharn vollständig zu fehlen. Ihre Bildung scheint von der Darmfäulniss, wenigstens zum Theil, abhängig zu sein.

Haagen sah die Kynurensäure sinken bei Fütterung von gekochtem Fleisch statt rohem, oder bei der Beifütterung von Naphtalin, Salol, Thymol zu rohem Fleisch, nicht von Jodoform. Nach Baumann[2]) scheidet ein Hund, dessen Darm durch grosse Dosen Calomel entleert worden ist, nicht weniger Kynurensäure aus als ein hungernder.

B. *Eigenschaften.* 1. Sehr feine, farblose, in trockenem Zustand seidenglänzende Nadeln. Beim Aufbewahren unter schwach saurem Wasser verwandeln sich diese in lange vierseitige glasglänzende Prismen. In kaltem Wasser so gut wie nicht, in heissem zu 0,1 % löslich. Sie löst sich in 500 Theilen kaltem Alkohol (Schneider); heisser Alkohol löst sie in nicht unbeträchtlicher Menge und lässt sie beim Erkalten theilweise wieder ausfallen; auch in Aether ist sie etwas löslich. Die Krystalle geben ihr Krystallwasser erst bei 150° vollständig ab. (O. Schmiedeberg und O. Schultzen, Kretschy[3]).

2. Die Kynurensäure löst sicht leicht in Alkalihydraten und kohlensauren Alkalien, indem sie mit den Basen Salze bildet; ihre Verbindungen mit den übrigen Basen sind schwer löslich oder unlöslich. Von den Salzen sind das Kali-, das Kalk-, das Baryt- und Kupfersalz krystallisirt erhalten worden (Liebig[4]), Kretschy), die beiden erstgenannten krystallisiren schwer, leicht dagegen das charakteristische Barytsalz; das Ammonsalz verliert beim Verdunsten seiner Lösung das Ammoniak.

a. Das Barytsalz, $(C_{10}H_6NO_3)_2Ba + 3\,H_2O$ (Schmiedeberg u. Schultzen, $+ 4^1/_2\,H_2O$ Kretschy), wird erhalten, wenn man Kynurensäure in heissem Barytwasser auflöst, die Lösung mit Kohlensäure neutralisirt, die Flüssigkeit sammt Niederschlag zum Sieden erhitzt, heiss filtrirt und das Filtrat zur Krystallisation verdunstet; ebenso erhält man das Salz durch Kochen der Säure mit kohlensaurem Baryt und Wasser. Es bildet dreieckige, übereinander geschichtete, glänzende Plättchen (Taf. 1, rechte Hälfte der Figur 4) oder Nadeln, reagirt neutral und verliert sein Krystallwasser erst bei 150—160° völlig. Das Salz löst sich schwer in kaltem, leichter in heissem Wassser, noch leichter in Barytwasser; beim Neutralisiren dieser alkalischen Lösung fällt kynurensaurer Baryt aus. Durch Säuren wird das Salz zersetzt, aber nach Meissner, Liebig[5]), sowie Schmiedeberg und Schultzen nicht durch Kohlensäure.

---

1) Liebig, Ann. d. Ch. u. Pharm. **86**. 125. 1853. — Rubner, Ztschr. f. Biol. **21**. 279. 1885.

2) M. Haagen, Dissert. Königsberg 1887; Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1889. 214. — Baumann, Ztschr. f. physiol. Ch. **10**. 132. 1886.

3) O. Schmiedeberg u. O. Schultzen, Ann. d. Chem. u. Pharm. **164**. 155. — M. Kretschy, Monatshefte f. Ch. **2**. 57. 1881.

4) Liebig, a. a. O. u. **108**. 354.

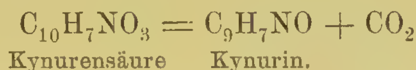
5) G. Meissner u. Shepard, Untersuchungen über das Entstehen der Hippursäure etc. Hannover 1866. 203. — Liebig, a. a. O. **140**. 143.

b. Eine ammoniakalische Lösung der Kynurensäure giebt mit salpetersaurem Silber einen dicken weissen, in der Wärme nicht löslichen Niederschlag (Liebig), in welchem bald Reduction eintritt, wenn die Säure nicht rein ist (Schneider, Kretschy); der Niederschlag löst sich leicht in überschüssigem Ammoniak (Huppert). — Kynurensaurer Baryt giebt mit essigsaurem Blei sowie mit Chlorzink weisse, im Ueberschuss des Reagens lösliche Niederschläge, mit essigsaurem Kupfer einen gelbgrünen, krystallinischen, mit salpetersaurem Quecksilberoxyd einen weissen, mit Eisenchlorid einen ziegelrothen, mit Platinchlorid einen hellgelben Niederschlag (F. Hofmeister, Kretschy).

3. Die Kynurensäure verbindet sich auch mit Säuren. In salpetersäure- und in salzsäurehaltigem Wasser löst sie sich so gut wie nicht, dagegen löst sie sich leicht in den Mineralsäuren bei nur mässiger Verdünnung derselben, ebenso ohne Veränderung in concentrirten Mineralsäuren, wenn die Anwendung von Wärme vermieden wird; Wasser fällt die Kynurensäure aus ihren Lösungen in den Säuren wieder aus. Von den Verbindungen der Kynurensäure mit Säuren ist das salzsaure Salz, $C_{10}H_7NO_3$, HCl, von Brieger dargestellt worden; auch ein Platinchloridsalz scheint zu bestehen (Kretschy). Von Bedeutung ist die Verbindung der Kynurensäure mit der Phosphorwolframsäure wegen ihrer Schwerlöslichkeit.

Nach F. Hofmeister[1]) giebt eine Lösung von Kynurensäure bei Gegenwart einer freien Mineralsäure, aber nicht bei Gegenwart von Essigsäure, mit Phosphorwolframsäure einen Niederschlag von rhombischen Täfelchen. Der Niederschlag bildet sich sofort noch bei einer Verdünnung der Lösung der Kynurensäure von 1 : 4000; bei einer Verdünnung von 1 : 12 000 entsteht zunächst schwache Trübung und nach 24 Stunden haben sich Kryställchen abgesetzt; bei einer Verdünnung von 1 : 16 000 bleibt die Flüssigkeit anfangs klar, scheidet aber binnen 24 Stunden auch noch Krystalle ab.

4. Beim Erhitzen im Glasrohr schmilzt die Kynurensäure zu einer braunen Flüssigkeit, welche endlich unter Zurücklassung einer Spur Kohle vollständig sublimirt; das Sublimat ist weiss, seidenglänzend, krystallinisch und löst sich leicht in Alkohol (Liebig). Nach Schmiedeberg und Schultzen schmilzt die Kynurensäure bei 265^0 und zerfällt dabei (bei 253—258^0 nach Kretschy) sogleich in Kohlensäure und eine organische Basis, das Kynurin; auch das Kalksalz liefert bei schwachem Glühen Kynurin (Kretschy).



$$C_{10}H_7NO_3 = C_9H_7NO + CO_2$$

Kynurensäure Kynurin.

Nach der von Wenzel[2]) ausgeführten Synthese ist das Kynurin γ-Oxychinolin.

Der Schmelzrückstand löst sich bis auf einen kleinen Rest Kohle leicht in Wasser und aus der mit Thierkohle entfärbten Lösung krystallisirt das Kynurin in glashellen, zu Drusen vereinigten Prismen. Die Krystalle sind wasserfrei, luftbeständig, von neutraler oder schwach alkalischer Reaction, lösen sich wenig in

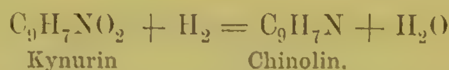
---

[1]) F. Hofmeister, Ztschr. f. physiol. Ch. **5**. 70.
[2]) F. Wenzel, Monatshefte f. Ch. **15**. 469. 1894.

kaltem Wasser, leichter in kaltem Alkohol, schwerer in absolutem Aether, Petroleumäther, Benzol und binden bei längerem Stehen an der Luft etwas Kohlensäure. Das Kynurin schmeckt rein bitter, wie Chinin, nur lange nicht so intensiv. Bei 201° schmilzt es zu einer farblosen Flüssigkeit und erstarrt beim Abkühlen plötzlich bei 159—160°. Es hat nur geringe Neigung zu sublimiren. — Wenn Kynurin aus seiner wässrigen Lösung plötzlich auskrystallisirt, so tritt es in Nadeldrusen mit $3H_2O$ Krystallwasser auf; diese Krystalle verwittern schnell und schmelzen in ihrem Krystallwasser bei ungefähr 52°. — Eisenchlorid färbt die Lösung des Kynurins schwach carminroth, Eisenvitriol schwach gelblich, Millon'sches Reagens allmählich intensiv gelbgrün. Das Kynurin wird gefällt durch Pikrinsäure, salpetersaures Silber, Platinchlorid und Goldchlorid; die Chloridniederschläge sind in Alkohol erheblich löslich. Mit Säuren giebt das Kynurin stark sauer reagirende gut krystallisirende Verbindungen. Salzsäure bildet mit ihm ein normales Salz $C_9H_7NO, HCl + H_2O$ (Schmiedeberg und Schultzen), und ein basisches $(C_9H_7NO)_2, HCl + 2H_2O$ (Kretschy); Skraup[1]) erhielt beide; beide krystallisirten in Nadeln. Das Platinsalz, $(C_9H_7NO)_2, H_2PtCl_6 + 2H_2O$, bildet einen schwefelgelben krystallinischen Niederschlag oder orangegelbe Nadeln. Das Goldchloridsalz besteht aus grünlichgelben Nadeln.

5. Anhaltendes Kochen der Kynurensäure mit Salpetersäure verändert sie nicht. Ihre Lösung in concentrirter Schwefelsäure bräunt sich beim Erwärmen schwach, und scheidet auf Zusatz von Wasser einen schön citronengelben amorphen Niederschlag ab (Liebig). — Concentrirte Jodwasserstoffsäure verwandelt die Säure bei 180° im zugeschmolzenen Rohr in compakte Prismen, ohne sie sonst zu verändern (Schmiedeberg und Schultzen). — Wird die Kynurensäure mit concentrirter Salzsäure auf 240° erhitzt, so giebt sie nach Kretschy[2]) unter Kohlensäureentwickelung salzsaures Kynurin.

6. Wird Kynurensäure mit Zinkstaub im Wasserstoffstrom erhitzt, so liefert sie nach Kretschy[3]) unter Kohlensäureentwickelung fast ganz reines Chinolin:



$$C_9H_7NO_2 + H_2 = C_9H_7N + H_2O$$

Kynurin Chinolin.

7. Beim Schmelzen mit Kalihydrat verbrannte die Kynurensäure nach Kretschy grösstentheils ohne Ammoniakentwicklung und ohne dass ein Zwischenproduct erfasst werden konnte.

8. In alkalischer Lösung werden die Kynurensäure und das Kynurin zu Kynursäure (Carbostyrilsäure, Ortho-Oxamidobenzoësäure, Oxalyl-Orthoamidobenzoësäure $COOH . CO . HN . C_6H_4 . COOH$) oxydirt (Kretschy[4]).

9. Erhitzt man Kynurensäure mit Salzsäure und chlorsaurem Kali, so entsteht nach Jaffé[5]) neben anderen Produkten Tetrachloroxy-

[1]) Zd. H. Skraup, Monatshefte f. Ch. **9**. 818. 1888; **10**. 728.
[2]) M. Kretschy, Ber. d. ch. Gesellsch. **12**. 1674; Monatshefte f. Chem. **2**. 84.
[3]) M. Kretschy, Ber. d. ch. Gesellsch. **12**. 1674; Monatshefte f. Chem. **2**. 79.
[4]) M. Kretschy, Monatshefte f. Chemie **4**. 156. 1883; **5**. 16. 1884.
[5]) Jaffé, Ztschr. f. physiol. Ch. **7**. 399.

kynurin: $C_9H_3Cl_4NO_2$. Dasselbe färbt sich in dünner Schicht, mit Ammoniak übergossen, erst mahagonibraun, allmählich aber dunkelgrün später fast schwarzblau.

10. Lösungen von Kynurensäure geben auf Zusatz von Bromwasser einen starken, citronengelben Niederschlag, der bald krystallinisch wird (Baumann). Der Niederschlag zersetzt sich nach L. Brieger[1]) leicht unter Abgabe von Kohlensäure, die aber nur in der Wärme vollständig ist und verwandelt sich in Tetrabrom-Kynurin: $C_9H_3Br_4NO$.

Das Tetrabrom-Kynurin enthält ein Atom Brom locker gebunden; dasselbe wird zwar nicht durch Schütteln der Verbindung mit kaltem Wasser frei, wohl aber unter der Einwirkung von Alkohol oder von Alkalihydraten sowie beim Erwärmen der Verbindung für sich; der in Wasser zertheilte Niederschlag giebt mit Jodkaliumkleister sofort blaue Färbung. Das Tetrabrom-Kynurin wäre also den entsprechenden Parakresol- und Phenolverbindungen analog und als Tribromkynurin-Brom, $C_9H_3Br_3N.OBr$, zu betrachten.

Das Tetrabrom-Kynurin löst sich mit gelber Farbe in Alkohol; beim Kochen der Lösung entweicht unter Abnahme der gelben Färbung Bromaethyl und Bromwasserstoff und aus der Lösung krystallisiren beim Verdunsten weisse Nadeln von Tribrom-Kynurin, $C_9H_4Br_3NO$. Dasselbe löst sich leicht in heissem, schwer in kaltem Alkohol, gar nicht in Wasser, dagegen in den Alkalihydraten und fällt aus diesen Lösungen auf Zusatz von Säure.

Auch Kynurin giebt mit Bromwasser einen flockigen Niederschlag, der jedoch nicht krystallinisch, sonst aber der gelben Verbindung aus Kynurensäure sehr ähnlich ist. Beim Kochen mit Alkohol giebt dieser Niederschlag Brom ab und verwandelt sich gleichfalls in Tribromkynurin.

Mit Ammoniak färbt sich das Tribromkynurin nicht grün (Jaffé).

C. *Darstellung.* Zur Darstellung der Kynurensäure ist frischer Hundeharn zu verwenden; wenigstens hat Hofmeister aus gefaultem Hundeharn nur eine auffällig geringe Ausbeute erhalten. Man verfährt in folgender Weise.

a. Dem Harn werden auf 100 cc 4 cc concentrirte Salzsäure zugesetzt und die Flüssigkeit 48 Stunden stehen gelassen (Voit), wobei auch Schwefel (aus der Thioschwefelsäure) ausfallen kann.

b. Man dampft den Harn entweder direkt oder nach der Fällung mit Bleizuckerlösung und Entfernung des überschüssigen Bleis durch Schwefelwasserstoff auf ein Drittel ein, säuert mit Salzsäure oder Salpetersäure an und lässt tagelang an einem kühlen Orte stehen (Schmiedeberg und Schultzen).

c. Der Harn wird mit Kalkmilch alkalisch gemacht und auf ein kleines Volumen eingedampft. Aus dem abfiltrirten Rückstand fällt man die Kynurensäure durch Zusatz von Salzsäure bis zur stärker sauren Reaction, und lässt die Flüssigkeit einige Tage stehen. Ein zu grosser Ueberschuss an Kalk muss vermieden werden, da sich sonst die Kynurensäure, besonders bei zu starkem Eindampfen, zum Theil zersetzt (Schneider[2]).

d. Schmidt beschreibt das folgende von Jaffé angegebene Verfahren. Der Harn wird zum dicken Syrup eingedampft, mit frischem Alkohol ausgezogen und der Auszug 24 Stunden stehen gelassen. Dann wird die Lösung abfiltrirt,

1) E. Baumann, Ztschr. f. physiol. Chem. **1**. 62. — L. Brieger, Ztschr. f. physiol. Chem. **4**. 89.
2) Schneider, Virchow's Archiv **29**. 583.

der entstandene Niederschlag mit Alkohol nachgewaschen und die gesammte Flüssigkeit wieder zum Syrup eingedampft, dieser in Wasser gelöst und die Lösung nach dem Ansäuern mit verdünnter Schwefelsäure mit Aether ausgeschüttelt. Der in Alkohol unlösliche Antheil enthält keine Kynurensäure mehr. — Hauser[1]) hat das Verfahren dahin abgeändert, dass er aus dem alkoholischen Harnauszug die Kynurensäure direkt durch starkes Ansäuern mit Salzsäure fällte.

e. Es wird der Harn mit 0,1 Vol. concentrirter Schwefelsäure, darauf abwechselnd mit Phosphorwolframsäure und Salzsäure versetzt, bis kein Niederschlag mehr entsteht, dieser mit auf das 20 fache verdünnter Schwefelsäure (durch Decantiren) chlorfrei gewaschen, abgepresst, mit überschüssigem Baryumhydrat gekocht und die stark alkalische Lösung abfiltrirt. Den überschüssigen Baryt kann man durch Kohlensäure entfernen. Man dampft dann auf ein kleines Volumen ein und versetzt mit Salzsäure bis zur stark sauren Reaction (F. Hofmeister[2]).

Von diesen Methoden giebt die von Hofmeister die beste Ausbeute, doch sind sie sämmtlich mit einem kleinen Verlust an Kynurensäure verbunden, da bei Zusatz von zu wenig Säure Kynurensäure gelöst bleibt, bei Zusatz von zu viel, Kynurensäure wieder in Lösung gehen kann. Bromwasser giebt in solchem Falle mit dem Filtrat noch einen Niederschlag der Bromverbindung B. 10 (Baumann). Der Verlust an Kynurensäure wird um so grösser sein, je verdünnter die Lösung war, aus welcher sie gefällt wurde. Auch das vorläufige Fällen des Harns mit essigsaurem Blei (b) könnte einen Verlust an Kynurensäure nach sich ziehen (B. 2. b). Beim direkten Fällen des Harns mit Säure oder nach vorläufigem Eindampfen erhält man Flüssigkeiten, welche nur sehr langsam filtriren und das Filter leicht verstopfen. Diese Uebelstände werden wenigstens zum Theil vermieden bei der Methode e; ihr wesentlicher Vorzug besteht aber darin, dass man die Kynurensäure sogleich frei von Harnsäure erhält und von Schwefel, welcher sich bei Zusatz von Säure aus dem im Hundeharn häufig enthaltenen unterschwefligsauren Salz abscheidet.

In allen Fällen ist die Kynurensäure noch stark gefärbt und schon deshalb einer weiteren Reinigung zu unterziehen.

Der Schwefel lässt sich durch Waschen der trockenen Säure mit Schwefelkohlenstoff entfernen; den die Krystalle durchtränkenden Schwefelkohlenstoff entfernt man, ehe er verdunstet, durch Aether.

Um die Kynurensäure von beigemengter Harnsäure zu trennen, kocht man nach Meissner u. Shepard den Niederschlag eine Weile mit kohlensaurem Baryt und Wasser, filtrirt heiss und säuert das eingedampfte Filtrat mit Salzsäure an. Oder man digerirt den Niederschlag mit Ammoniak, wobei die Kynurensäure leicht in Lösung geht. — Stadthagen[3]) entzog dem Gemeng die Kynurensäure durch heissen absoluten Alkohol.

---

1) A. Schmidt, Ueber das Verhalten einiger Chinolinderivate im Thierkörper. Dissert. Königsberg 1884. 9. — A. Hauser, Arch. f. exper. Pathol. **36**. 5.

2) F. Hofmeister, Ztschr. f. physiol. Ch. **5**. 67. 1881.

3) G. Meissner u. C. U. Shepard, Untersuchungen über das Entstehen der Hippursäure im thierischen Organismus. Hannover 1866. 203. — Stadthagen, Virchow's Archiv **109**. 418.

Die völlige Entfernung des Farbstoffs bietet grosse Schwierigkeiten dar. Eines grossen Theils des Farbstoffes wird man von vornherein ledig, wenn man nach Hofmeister die rohe Kynurensäure in verdünntem Ammoniak löst und die braune Flüssigkeit tropfenweise mit essigsaurem Blei versetzt, bis ein mässig starker Niederschlag entstanden ist. Das Filtrat ist dann weingelb und giebt auf Zusatz von Säure eine nur wenig gefärbte Säure, deren Barytsalz unter gleichzeitiger Verwendung von Thierkohle aus schwachem Ammoniak umkrystallisirt wird.

Niggeler[1]) erhielt fast farblose Krystalle von Kynurensäure durch Fällen des Harns mit Bleiessig, Zerlegen des Niederschlags mit Schwefelwasserstoff und Filtriren der heissen Flüssigkeit.

Nach Schmiedeberg und Schultzen erhält man die Kynurensäure rein, wenn man sie in Ammoniak löst, die Lösung mit Thierkohle entfärbt und mit Essigsäure fällt. Das Verfahren muss vielfach wiederholt werden. Die Säure scheidet sich dabei langsam in grösseren platten Nadeln ab, während die essigsaure Mutterlauge jedesmal eine ziemlich beträchtliche Menge Farbstoff neben wenig Kynurensäure in Lösung behält. Schneider, der ein gleiches Verfahren benutzte, aber mit Salzsäure fällte, macht darauf aufmerksam, dass man die Krystalle bald von der Mutterlauge trennen und waschen muss, um eine Wiederaufnahme des Farbstoffs durch die Krystalle zu verhüten.

Bereitung der Phosphorwolframsäure. Für viele Zwecke genügt ein Präparat, welches man erhält, wenn man eine heisse Lösung von 250 g wolframsaurem Natron mit so viel Phosphorsäure versetzt, bis die Flüssigkeit mit Salzsäure keinen flockigen Niederschlag mehr giebt. Die Lösung wird auf 1 Liter aufgefüllt. Diese rohe Säure schlägt aber manche Substanzen nicht oder nicht so vollkommen nieder, wie rein dargestellte Säure.

Ein vorzügliches Präparat erhält man nach einer von Kehrmann u. Freinkel[2]) gegebenen Vorschrift, die man, nach meinen Erfahrungen, in folgender Weise ausführt. Es werden 1 Kg. wolframsaures Natron und 150 g krystallisirtes phosphorsaures Natron, jedes für sich, aufgelöst, die Filtrate vermischt, bis zur Krystallhaut eingedampft und nach und nach mit 1 Liter Salzsäure von 1,12 Dichte vermischt. Nach dem Erkalten wird der entstandene Niederschlag von phosphorwolframsaurem Natron auf einem Trichter abgesogen, in dessen Spitze man eine Glaskugel gelegt hat. Die Mutterlauge lässt sich, wie die direkt aus Wolframat und Phosphorsäure erhaltene Säure, zu Reactionen verwenden. Die abgesogenen Krystalle werden in heissem Wasser gelöst, auf das Kilo (der Krystalle) mit einer heiss gesättigten Lösung von 120 g krystallisirtem Chlorbaryum vermischt und die Lösung wieder bis zur Krystallhaut eingedampft. Nach dem Erkalten wird das Barytsalz abgesogen und wenigstens zweimal umkrystallisirt. Hierbei lässt sich das Salz chlorfrei erhalten. Der Baryt wird aus der siedenden Lösung durch Schwefelsäure gefällt, wozu auf das Kilo Barytsalz 220 cc 10fach verdünnter Schwefelsäure erforderlich sind. Nach dem Erkalten filtrirt man und dampft zur Krystallisation ein. Nach der Rechnung soll die Ausbeute 73 % des wolframsauren Natrons betragen; es werden aber nur ungefähr 70 % der berechneten Menge erhalten. — Man muss ein gutes Präparat von wolframsaurem Natron verwenden; es kommt Wolframat im Handel vor, welches sich zu verarbeiten nicht lohnt.

Die Phosphorwolframsäure ist sehr leicht löslich. Aus concentrirter Lösung wird sie durch Schwefelsäure, die auf das 20fache verdünnt ist, krystallinisch gefällt, durch 5 proc. Schwefelsäure und durch Essigsäure dagegen nicht. Eine 10 proc. Phosphorwolframsäurelösung wird durch das gleiche Vol. Salzsäure von 1,12 Dichte noch nicht getrübt, aber durch mehr Salzsäure.

In Gegenwart von Mineralsäure werden durch die Phosphorwolframsäure niedergeschlagen ausser der Kynurensäure die Xanthinbasen und die Harnsäure, das Kreatinin und das Lysatinin, die Diamidofettsäuren und die Diamine (Putrescin etc.),.

---

1) R. Niggeler, Archiv f. exper. Pathol. **3.** 70. 1875.
2) Kehrmann u. Freinkel, Ber. d. chem. Gesellsch. **24.** 2326. 1891.

Thetinkörper, Harnfarbstoffe (Urochrom), die Eiweisskörper, das Glykogen und das Amylodextrin, ferner von anorganischen Substanzen das Kali und das Ammoniak. Diese letzteren beiden Salze sind in kaltem und heissem Wasser so gut wie unlöslich; das Ammonsalz ist feinpulvrig und geht leicht auch durch ein dichtes Filter. Durch Baryum- oder Calciumhydrat im Ueberschuss lässt sich die Säure vollständig abscheiden.

D. *Nachweis.* Zum Nachweis von Kynurensäure im Harn direkt ist das Bromwasser, obwohl ein empfindliches Reagens auf Kynurensäure, nicht verwendbar, weil der Harn noch andere Substanzen (Phenole u. s. w. § 7. I. B. 5. 1. S. 152) enthält, welche mit Brom einen gelben Niederschlag geben; es wird daher aus jedem Hundeharn mit Brom ein gelber amorpher, sich schlecht absetzender und schlecht filtrirender Niederschlag erhalten (Baumann, Brieger).

Dagegen dient für den Nachweis der Kynurensäure die Krystallform des Niederschlags; der auf Zusatz von Salzsäure oder Essigsäure zu dem Hundeharn entsteht (B. 1), die Krystallform des Barytsalzes (B. 2. a), welche sehr charakteristisch und für sich allein schon beweisend ist, ferner bei Abwesenheit anderer sich ähnlich verhaltender Substanzen die Bildung eines citronengelben, beim Stehen bald krystallinisch werdenden Niederschlags auf Zusatz von Bromwasser zu einer Lösung der Säure (B. 10), und endlich die Bildung von rhombischen Täfelchen auf Zusatz von Phosphorwolframsäure zu einer selbst sehr verdünnten, mit Salzsäure angesäuerten Lösung der Säure. Alle diese Reactionen werden jedoch an Empfindlichkeit und Sicherheit durch die von Jaffé angegebene, auf der Bildung von Tetrachloroxykynurin (B. 9.) beruhende, übertroffen.

Die Probe wird mit Salzsäure und chlorsaurem Kali auf dem Wasserbad oder vorsichtig über der freien Flamme verdunstet. Bei Gegenwart von Kynurensäure wird der röthliche Rückstand nach dem Befeuchten mit Ammoniak zunächst grünbraun und nach kurzer Zeit smaragdgrün. Die Stärke der Färbung nimmt beim Stehen an der Luft erheblich zu. Beim Erwärmen geht das Grün in schmutzig violett über. Diese Reaction, bei welcher die Nebenprodukte des Tetrachloroxykynurins mehr betheiligt zu sein scheinen als dieses selbst, gelingt mit minimalen Mengen Kynurensäure um so schöner, je reiner die Säure ist, doch ist sie auch mit der gefärbten rohen Säure sehr deutlich. Kein anderer normaler Harnbestandtheil giebt diese Probe.

Die milchige Trübung, welche Hundeharn auf Zusatz von Säure annimmt, ist kein Anzeichen der Kynurensäure, sondern rührt von dem Schwefel her, welcher aus der unterschwefligen Säure abgeschieden wird.

§ 25. Skatolkohlensäure.


$C_9H_8N . COOH$.

Syn. Skatolcarbonsäure.

Die Säure ist von E. Salkowski und H. Salkowski[1]) entdeckt und beschrieben worden.

A. *Vorkommen.* Bei der Darstellung der aromatischen Oxysäuren des Harns (§ 24 I.) wurden von Baumann neben diesen in Wasser schwer lösliche stickstoff-

[1]) E. Salkowski und H. Salkowski, Berichte d. chem. Gesellsch. 13. 191. u. 2217. 1891; Ztschr. f. physiol. Ch. 9. 13. 1885.

haltige Säuren erhalten, welche sich in öligen Tropfen abschieden, und mit rauchender Salpetersäure, ähnlich dem Indol, einen schön rothen Niederschlag gaben, der mit überschüssiger Salpetersäure verharzte. Die verdünnte wässrige Lösung derselben lieferte bei der Fäulniss mit Kloakenschlamm nicht unerhebliche Mengen Skatol, aber kein Indol. Bei anhaltendem Kochen derselben oder des Harns direkt mit starker Salzsäure wurden harzige Produkte erhalten, welche kein Skatol mehr gaben. — E. Salkowski gewann aus menschlichem Harn eine Säure in Lösung, welche nach den Reactionen Skatolkohlensäure sein konnte. In Substanz aus dem Harn dargestellt ist Skatolcarbonsäure mit Bestimmtheit noch nicht; sie dürfte sich nur in sehr kleiner Menge im Harn vorfinden; es gelang Otto[1]) nicht, sie in einer für die nähere Untersuchung genügenden Menge aus einem an Skatoxylschwefelsäure reichen diabetischen Harn zu gewinnen. Sie entsteht bei der Fäulniss der Eiweisssubstanzen im Darm und geht unverändert in den Harn über.

Bei der Vergährung von Serumeiweiss mit Bac. liquefaciens magnus, Bac. spinosus und dem Rauschbrandbacillus entsteht nach Nencki und Bovet[2]) neben anderen Produkten Skatolessigsäure.

B. *Eigenschaften.* 1. Die aus gefaultem Eiweiss dargestellte Säure krystallisirt aus heissem Wasser in kleinen weissen Körnchen und Warzen, aus Benzol in kleinen seidenglänzenden Plättchen. Sie schmilzt bei 164^0 und zersetzt sich wenig über ihrem Schmelzpunkt in Kohlensäure und ein schnell krystallinisch erstarrendes Sublimat von Skatol. In kaltem Wasser löst sie sich schwer, leichter in heissem; in Aether, in Alkohol und in heissem Benzol löst sie sich gleichfalls. Mit Wasserdämpfen ist sie nicht flüchtig. Sie ist geruchlos.

2. In unreiner wässriger Lösung zersetzt sie sich beim Eindampfen unter Entwicklung des Geruchs nach Skatol und Bildung eines rothen oder violetten Stoffs. Lässt man die wässrige Lösung längere Zeit stehen, so zersetzt sich die Säure theilweise unter Ausscheidung eines pulverigen bräunlichen Niederschlags. Gegen Fäulnissfermente ist sie widerstandsfähig.

3. Ihre Alkalisalze sind leicht löslich und reagiren neutral; in wässriger Lösung hält sich das Natronsalz anscheinend unverändert. In einer Alkalisalzlösung von 0,1$^0/_0$ giebt Bleizucker langsam einen krystallinischen Niederschlag, Kupferacetat, Quecksilberchlorid, Eisenchlorid, Silbernitrat Nichts oder nur eine leichte Trübung; die mit Quecksilberchlorid versetzte Lösung giebt bei vorsichtigem Hinzufügen von wenig Natronlauge einen grauweissen Niederschlag. Aus concentrirterer Lösung fällt salpetersaures Silber ein schwer lösliches Silbersalz.

4. Erwärmt man die verdünnte Lösung nach Zusatz von wenig Eisenchlorid, so erscheint sie im durchfallenden Licht blauroth und trüb, im auffallenden weisslich grau; säuert man darauf vorsichtig an, so entsteht ein grauvioletter Niederschlag, der sich nach dem Auswaschen in Alkohol leicht mit blaurother Farbe löst. — Säuert man eine 0,1 proc. Lösung der Säure oder eines ihrer Salze mit Salzsäure an, fügt sehr verdünnte Eisenchloridlösung hinzu und erhizt zum Sieden, so färbt sich die Flüssigkeit kirschroth. Verdünntere Lösungen (bis 1 : 100 000) werden nach E. Salkowski[3]) nur violett. Der Farbstoff löst sich leicht in Amylalkohol, dagegen nicht in Aether, in Benzol und in Chloroform. Essigäther nimmt aus einer concentrirten Lösung rothen Farbstoff auf, beim Schütteln mit einer verdünnten Lösung färbt sich der Essigäther nur gelb und die rückständige wässrige Lösung besitzt darnach eine noch schönere Färbung; allen Farbstoff nimmt der Essigäther niemals auf.

5. Versetzt man nach E. Salkowski[4]) eine 0,1proc. Lösung der Säure mit einigen Tropfen Salpetersäure von 1,2 Dichte und wenig Tropfen einer 2 proc.

---

[1]) Baumann, Ber. d. chem. Gesellsch. **13**. 284. 1880. — E. Salkowski, Ztschr. f. physiol. Ch. **9**. 32. 1885. — J. Otto, Pflüger's Archiv **33**. 617. 1884.
[2]) M. Nencki, Monatshefte f. Ch. **10**. 506. 1889.
[3]) E. Salkowski, Ztschr. f. physiol. Ch. **9**. 23.
[4]) E. Salkowski, Ztschr. f. physiol. Ch. **9**. 23.

Kaliumnitritlösung, so färbt sie sich schnell kirschroth und scheidet einen rothen Farbstoff ab, welcher sich mit Essigäther oder Amylalkohol leicht ausschütteln lässt, der dagegen in Aether, in Benzol und in Chloroform unlöslich ist. Die Lösung des Farbstoffs in Essigäther zeigt einen Absorptionsstreifen in Grün. Natronlauge entzieht dem Essigäther den Farbstoff und färbt sich dabei gelb; beim Ansäuren geht der Farbstoff wieder mit rother Farbe in den Essigäther über. Die Reaction tritt noch ein bei einer Verdünnung von 1 : 10 000. Ein Ueberschuss von salpetriger Säure zerstört den Farbstoff. Der Farbstoff unterscheidet sich vom Nitrosoindol dadurch, dass dieses nach der Reduction mit verdünnter Natronlauge und Zinkstaub an der Luft blau, der fragliche Farbstoff aber dauernd entfärbt wird.

6. Versetzt man eine 0,1 proc. Lösung der Säure oder eines ihrer Salze mit dem gleichen Volumen Salzsäure von 1,2 Dichte und mit einigen Tropfen schwacher Chlorkalklösung (Jaffé'sche Indicanprobe), so färbt sie sich allmählich purpurroth und setzt bei längerem Stehen einen purpurrothen, in Alkohol leicht löslichen Niederschlag ab. Auch bei zehnfacher Verdünnung dieser Lösung tritt die Reaction noch ein. Gegen Amylalkohol, Aether, Benzol und Chloroform verhält sich dieser Farbstoff wie der durch salpetrige Säure erzeugte, aber Essigäther nimmt ihn nur schwierig oder fast gar nicht auf (E. Salkowski).

Die Reactionen 4—6 treten auch bei Gegenwart der aromatischen Oxysäuren (§ 24. I.) auf.

7. Die Skatolcarbonsäure giebt nach E. Salkowski[2]) die Millon'sche Reaction je nach der Art, wie diese angestellt wird, entweder nicht oder die Flüssigkeit färbt sich schmutzig rothbraun; die aromatischen Oxysäuren (§ 24. I.) geben die Reaction.

8. Beim Erwärmen der Säure mit concentrirter Salpetersäure färbt sich die Flüssigkeit stark gelb (E. Salkowski[1]).

9. Versetzt man eine Lösung von Skatolkohlensäure in Eisessig mit concentrirter Schwefelsäure, so färbt sie sich schön violett und fluorescirt schwach grün (Adamkiewicz'sche Reaction). Indol und Skatol geben diese Reaction auch, die aromatischen Oxysäuren geben sie dagegen nicht (E. Salkowski[2]).

Die von W. Wislicenus u. Arnold, sowie von Ciamician u. Magnanini[3]) auf verschiedenen Wegen künstlich dargestellte Skatolcarbonsäure (β-Methyl- α-Indolcarbonsäure) $C_6H_4 \langle {}^{\diagup C . CH_3}_{\diagdown NH} \rangle C . COOH$ zeigt in manchen Stücken grosse Aehnlichkeit mit der Skatolkohlensäure von Salkowski, unterscheidet sich aber von dieser wieder in anderer Hinsicht namentlich durch die Farbenreactionen.

C. *Nachweis.* Der Harn giebt selbst bei einem sehr geringen Gehalt an Skatolcarbonsäure (der 48stündige Harn eines Kaninchens nach Verabreichung von 10 mg der Säure) nach E. Salkowski[4]) noch direct die Reaction mit Eisenchlorid, mit salpetriger Säure und mit unterchloriger Säure (B. 4—6). Da sich aber auch der nach Einverleibung von Skatol entleerte Harn wenigstens gegen salpetrige und gegen unterchlorige Säure ganz ähnlich verhält und bei normalem Harn die Proben bei der directen Untersuchung versagen, so ist die Skatolcarbonsäure erst einigermaassen rein darzustellen.

---

[1]) E. Salkowski, Ztschr. f. physiol. Ch. **12**. 216. 1888.
[2]) E. Salkowski, Ztschr. f. physiol. Ch. **12**. 221.
[3]) W. Wislicenus und E. Arnold. Ber. d. chem. Gesellsch. **20**. 3394. 1887. — G. Ciamician und G. Magnanini, Ber. d. chem. Gesellsch. **21**. 672 und 1927. 1888.
[4]) E. Salkowski, a. a. O. **9**. 32.

Man verfährt dazu nach E. Salkowski[1]) in folgender Weise. Es werden mehrere Liter Harn eingedampft, der Rückstand mit absolutem Alkohol ausgezogen, die Lösung verdunstet und der Rückstand nach starkem Ansäuern mit Schwefelsäure und Aether ausgeschüttelt. Der ätherischen Lösung wird die Säure durch Schütteln mit Natriumcarbonatlösung entzogen, die alkalische Lösung eingedampft, der Rückstand wiederholt in Alkohol gelöst und verdunstet, die Lösung zuletzt mit Aether gefällt. Man verdunstet alsdann, zieht den Rückstand nach Zusatz von Salzsäure mit Aether aus, verdunstet den Aether, löst den Rückstand in heissem Wasser, verdunstet das Filtrat und bringt den Rückstand nochmals in wässrige Lösung. Mit dieser sind dann die Reactionen B. 4—6 anzustellen. Bei Harnen, welche reich an Skatolkohlensäure sind, krystallisirt aus der letzten wässrigen Lösung die Säure aus; sie kann durch Umkrystallisiren aus Benzol noch weiter gereinigt werden.

Die Skatolcarbonsäure kann auch in den nach § 24. I. 1. B. (S. 238) dargestellten aromatischen Oxysäuren mittelst der Reactionen B. 4—6 aufgesucht werden Auch kann man sie in dem Gemeng nach E. Salkowski[2]) so nachweisen, dass man dasselbe in einem Röhrchen über den Schmelzpunkt der Skatolkohlensäure erhitzt, das Röhrchen zerschneidet, mit etwas verdünnter Natronlauge destillirt und im Destillat das Skatol aufsucht (§ 7. VI. D. S. 168).

§ 26. Urocaninsäure.



$$C_{12}H_{12}N_4O_4 + 4H_2O.$$

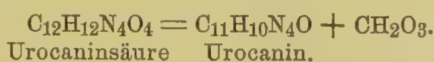
Vorkommen. Die Urocaninsäure ist von M. Jaffé[3]) im Harn eines Hundes entdeckt worden. Sie fand sich in demselben durch längere Zeit, im Harn mehrerer anderer Hunde dagegen nicht.

Eigenschaften. Farblose dünne Prismen oder feine, luftbeständige Nadeln. Das Krystallwasser der Krystalle entweicht bei 105°. Löst sich schwer in kaltem, leichter in heissem Wasser, nicht in Alkohol und in Aether. In absolutem Alkohol werden die Krystalle unter Verlust des Krystallwassers trübe und zerfallen. Schmelzpunkt 212—213°.

Die Urocaninsäure röthet Lackmus. Sie löst kohlensauren Baryt und bildet mit vielen Oxyden zum Theil krystallisirende Salze, mit Baryt ein nicht krystallisirendes, sehr leicht lösliches Salz.

Sie verbindet sich auch mit Mineralsäuren zu krystallisirenden Salzen, dagegen nicht mit organischen Säuren (Essigsäure, Oxalsäure u. s. w.) Das salzsaure Salz, $C_{12}H_{12}N_4O_4$, 2HCl, krystallisirt aus heisser Salzsäure in feinen nadelförmigen rhombischen Plättchen, ist luftbeständig, in Wasser äusserst leicht, in Salzsäure schwer löslich. — Das salpetersaure Salz, $C_{12}H_{12}N_4O_4$, $2HNO_3$, fällt auf Zusatz von Salpetersäure zu einer wässrigen Lösung der Urocaninsäure in sichelförmig gebogenen, an den Enden gefransten Plättchen, ist in verdünnter Salpetersäure fast unlöslich, ebenso in Alkohol, dagegen leicht in Wasser; beim Erhitzen verpufft das Salz unter Entwicklung rother Dämpfe. — Das schwefelsaure Salz, $C_{12}H_{12}N_4O_4$, H_2SO_4, krystallisirt aus heisser verdünnter Schwefelsäure in mikroskopischen Nadeln und Plättchen, löst sich schwer in kaltem Wasser, nicht in Alkohol und scheint beim Waschen mit Wasser Säure zu verlieren.

Bei ihrem Schmelzpunkt zersetzt sich die Urocaninsäure, analog der Kynurensäure, unter stürmischer Entwicklung von Kohlensäure und unter Abgabe von Wasser in eine Basis, das Urocanin:



$$C_{12}H_{12}N_4O_4 = C_{11}H_{10}N_4O + CH_2O_3.$$

Urocaninsäure Urocanin.

---

1) E. Salkowski, a. a. O. 9. 32.
2) E. Salkowski, a. a. O. 9. 16.
3) M. Jaffé, Ber. d. chem. Gesellsch. 7. 1669; 8. 811.

Das Urocanin löst sich leicht in Alkohol, wenig in Aether, schwer in kaltem Wasser, setzt sich beim Erkalten seiner wässrigen Lösung, sowie bei seiner durch Alkalien bewirkten Abscheidung aus Salzen, anfangs als milchige Trübung ab, die allmählich in leicht zerfliessende amorphe Flocken übergeht. Die Basis reagirt stark alkalisch und bildet mit Mineralsäuren durchweg leicht lösliche Salze, die ebenso wenig wie die Basis selbst zum Krystallisiren gebracht werden konnten, bis auf das Platinsalz, $C_{11}H_{10}N_4O, H_2PtCl_6$; der anfangs amorphe Niederschlag desselben verwandelt sich in ein schweres rothes Pulver, das aus kugelförmigen Drusen sehr feiner Nadeln besteht, sehr hygroskopisch, in Wasser äusserst schwer, in Alkohol und in Aether unlöslich ist. Unter heissem Wasser schmilzt es zu einer rothbraunen, beim Erkalten erstarrenden Flüssigkeit.

§ 27. Lithursäure.

Vorkommen. Die Lithursäure wurde bisher nur einmal beobachtet; sie ist von G. Roster[1]) in rundlichen Concrementen aufgefunden worden, welche von schwer arbeitenden Ochsen, die hauptsächlich die saftigen Stengel von blühendem Mais als Futter erhielten, von Zeit zu Zeit mit dem Harn entleert wurden. Der grösste der Steine wog 1,02 g, der kleinste 0,15 g. Sie waren sehr leicht, schwammen indess auf Wasser nicht. Ihre Farbe war ein helles Strohgelb von zuweilen graulicher Nuance. Auf den Bruchflächen zeigten sie keine Schichtung, aber deutlich krystallinische Structur. Zwischen den Fingern liessen sie sich nicht zerdrücken, aber sehr leicht im Mörser pulvern. Die Bruchstücke bestanden aus durchsichtigen, der Hippursäure ähnlichen Prismen, dem Magnesiumsalz der Lithursäure; daneben waren noch Spuren kohlensaurer Kalk und etwas Mucin vorhanden.

Eigenschaften. Der Säure kommt nach der Analyse des Magnesiumsalzes die Formel $C_{29}H_{38}N_2O_{17}$, oder vielleicht $C_{15}H_{19}NO_9$ zu. Sie scheidet sich aus der warm gesättigten Lösung des Magnesiumsalzes nach Zusatz von Salzsäure beim Erkalten in schneeweissen seidenglänzenden feinen Nadeln ab, die bei 204—205° schmelzen, sich in siedendem Wasser ziemlich, in siedendem Alkohol leicht, in den kalten Flüssigkeiten bedeutend schwerer lösen.

Das Magnesiumsalz $C_{29}H_{36}MgN_2O_{17}$ oder vielleicht $(C_{15}H_{18}NO_9)_2Mg$ — die Analyse stimmt besser zur ersten Formel — wurde durch Umkrystallisiren der Concremente aus heissem Wasser gewonnen. Durchsichtige seidenglänzende klinorhombische Prismen mit je zwei zuspitzenden Flächen an den Enden. Das Salz löst sich in siedendem Wasser ziemlich leicht, schwerer in kaltem Wasser, nicht in Alkohol oder in Aether. Auf dem Platinblech schwärzt es sich, schmilzt, verbrennt fast ohne Flamme und verbreitet dabei den Geruch des verbrennenden Zuckers. Beim Kochen mit Kalilauge entwickelt es kein Ammoniak, wohl aber beim Glühen mit Natronkalk.

§ 28. Unbenannte stickstoffhaltige aromatische Säure.

Nach derselben Methode wie die Oxymandelsäure (§ 24. II.) erhielten Schultzen und Riess[2]) aus dem Aetherextract von Harn bei acuter Phosphorvergiftung warzige Gruppen von zarten, farblosen, rhombischen Plättchen einer neuen aromatischen, stickstoffhaltigen Säure. (Beim Schmelzen mit Kalium lieferte dieselbe Cyan und bei der Destillation mit Kalk trat Anilin auf.) Die Säure schmolz constant bei 184—185°, bräunte sich dabei und erstarrte erst unter 100° theilweise. Ihre wässrige Lösung reagirte stark sauer und bildete bei der Behandlung mit kohlensaurem Baryt ein in Nadeln krystallisirendes, in Wasser ungemein lösliches Barytsalz. Bleizucker und Bleiessig fällten das Salz nicht, salpetersaures Silber gab aber mit der concentrirten Lösung einen käsigen Niederschlag, der sich unter geringer Bräunung in kochendem Wasser löste und beim Erkalten in glänzenden weissen, zu Drusen angeordneten Nadeln anschoss; dieses Silbersalz war wasserfrei und enthielt 33,92% Silber.

---

1) G. Roster, Ann. d. Chem. u. Pharm. **165**. 104.

2) Schultzen u. Riess, Annalen des Charité-Kranhenhauses **15**; Chem. Centralbl. 1869. 680.

III. Basen und Verbindungen der Harnsäuregruppe.

Von den Basen sind das Indoxyl und das Skatoxyl bei den Phenolen (§ 7, V. u. VI), die Säurederivate des Glykokolls und des Taurins bei den Säuren (§ 21—23) beschrieben.

§ 29. Diamine.

Die Diamine sind zweisäurige Basen, die sich dementsprechend auch mit 2 Mol. Benzoylchlorid zu benzamidartigen Verbindungen umsetzen. Sie geben Alkaloidreactionen.

A. *Vorkommen.* Zwei derselben, das Tetramethylendiamin (Putrescin) und das Pentamethylendiamin (Cadaverin) sind von v. Udránszky u. E. Baumann im Harn eines an Cystinurie Leidenden aufgefunden worden, das Cadaverin allein in zwei anderen Fällen von Cystinurie von Stadthagen u. Brieger; in dem Fall von v. Udránszky u. Baumann enthielt der Harn nach García[1]) später nur Putrescin.

In dem Fall von v. Udránszky u. Baumann wurden aus dem Harn täglich meist 0,2—0,4 g Benzoyldiamine gewonnen, von denen nur $^1/_4$—$^1/_3$ auf das Putrescin kam; an anderen Tagen überwog wieder das Putrescin. Die Untersuchung wurde im Laufe von mehr als einem Jahr an 50 Tagen vorgenommen und einmal 8 Tage hintereinander so gut wie kein Diamin aufgefunden, während die Cystinurie anhielt. Bei an Kohlenhydraten reicher Kost sank nach García das Diamin auf $^1/_3$—$^1/_4$, nahm aber bei Zulage von Käse zur Kost zu. In diesem Fall sowie in einem von Stadthagen u. Brieger bestand zugleich Blasenkatarrh. In den Excrementen des Kranken von v. Udránszky u. Baumann waren die Basen gleichfalls enthalten (bis 0,5 g im Tag), mit nur 10—15 % Pentamethylendiamin; in dem einen Fall von Stadthagen u. Brieger, in welchem der Koth auf die Diamine untersucht wurde, fehlten sie.

Die genannten Forscher haben die Diamine nicht im Harn (und in den Fäces) Gesunder nachweisen können, auch nicht bei Blasenkatarrhen, ebenso wenig bei Gicht (Stadthagen u. Brieger), bei ausgedehnten Eiterungen und verschiedenen Infectionskrankheiten, sowie im Harn (und Blut) von Hunden (v. Udránszky u. Baumann). E. Roos[2]) wies die Diamine im Cholerastuhl nach, fand sie aber im Harn nicht auf. Ebenso stellte er sie aus dem Koth in einem Falle von Malaria dar; der Harn wurde nicht untersucht.

Für die Herkunft der Diamine ist von Wichtigkeit, dass das Cadaverin nach Werigo[3]) regelmässig in Pankreasinfusen enthalten ist, auch nach der Sterilisation; nach García[1]) entstehen die Diamine bei der Fäulniss von Fleisch und Pankreas, in geringerer Menge aber in Gegenwart von Kohlenhydraten; Impfung des Fäulnissgemisches aus Excrementen einer Person, welche Diamine ausscheidet, erhöht die Ausbeute erheblich. Als Fäulnissprodukte hatte sie bereits Brieger erkannt.

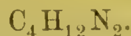
---

[1]) L. v. Udránszky u. E. Baumann, Berichte d. chem. Gesellsch. **21**. 2744. 2938. 1888; Ztschr. f. physiol. Ch. **13**. 562. 1889. — Stadthagen u. Brieger, Virchow's Archiv **115**. 490. 1889; Berliner klin. Wochenschr. 1889. 345. — S. A. García, Ztschr. f. physiol. Ch. **17**. 568. 1892.

[2]) E. Roos, Berliner klin. Wochenschr. 15. 1893; Ztschr. f. physiol. Ch. **16**. 192. 1891.

[3]) B. Werigo, Pflüger's Archiv **51**. 362. 1891.

I. Putrescin.


$C_4H_{12}N_2$.


$H_2N(CH_2)_4NH_2$.

Tetramethylendiamin.

Die Identität des Putrescins und des Tetramethylendiamins ist von v. Udránszky und Baumann[1]) nachgewiesen worden.

Eigenschaften.[2]) 1. Das Tetramethylendiamin bildet eine farblose ziemlich dünne Flüssigkeit von Spermageruch, welcher von dem des Cadaverins kaum verschieden ist, raucht etwas an der Luft, erstarrt in niederer Temperatur und schmilzt bei 23—24^0 wieder, siedet bei 158—160^0, ist mit Wasserdämpfen schwer flüchtig und wird durch Destilliren mit Kalilauge nicht zerstört. Löst sich leicht in Wasser, schwer in Aether. Ist optisch inactiv und wie das Cadaverin wenig giftig.

2. Das Chlorid, $C_4H_{12}N_2$, 2 HCl, lange farblose transparente Nadeln oder weiche tafelförmige Krystalle, ist nicht hygroskopisch, löst sich sehr leicht in Wasser, schwer in verdünntem Alkohol, nicht in absolutem Alkohol und in Aether. — Das Sulphat bildet hübsche, nicht zerfliessliche Krystalle. — Das Platinsalz $C_4H_{12}N_2$, H_2PtCl_6 krystallisirt in meist zu Drusen verwachsenen Nadeln oder in sechsseitigen, häufig übereinander geschichteten Plättchen und löst sich schwer in Wasser. — Das Goldsalz $C_4H_{12}N_2$, 2 $HAuCl_4$, 2 H_2O krystallisirt in Plättchen und ist schwer löslich. — Die Quecksilberchloridverbindung ist leicht löslich; aus alkoholischer Lösung kann aber die Basis durch alkoholische Sublimatlösung gefällt werden. — Das Pikrat scheidet sich auf Zusatz von Pikrinsäure zur Lösung des Chlorids in seidenglänzenden verfilzten dünnen gelben Nadeln ab, ist in kaltem Wasser fast unlöslich.

3. Alkaloidreactionen. Die freie Basis giebt mit Phosphorwolframsäure einen weissen im Ueberschuss löslichen Niederschlag, mit Phosphormolybdänsäure einen gelben, mit Kaliumquecksilberchlorid, Kaliumwismuthjodid und Kaliumkadmiumjodid ölige, bald krystallinisch werdende Niederschläge, mit Gerbsäure einen schmutzig weissen.

Die Niederschläge des Chlorids sind mit Phosphorwolframsäure weiss, mit Phosphormolybdänsäure gelb, mit Kaliumquecksilberchlorid und Kaliumwismuthjodid amorph, bald zu Nadeln erstarrend, mit Jodjodkalium und Jodjodwasserstoff braun, krystallinisch. Kaliumkadmiumchlorid giebt keinen Niederschlag.

4. Dibenzoyl-Tetramethylendiamin, $C_4H_8(NH\text{-}CO . C_6H_5)_2$, krystallisirt in seidenglänzenden Plättchen oder farblosen Nadeln, schmilzt bei 175—176^0, ist in Wasser unlöslich, fast unlöslich in Aether, schwer

---

1) L. v. Udránszky u. E. Baumann, Ber. d. chem. Gesellsch. **21**. 2938. 1888.

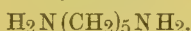
2) Brieger, Untersuchungen über Ptomaine **2**. 42. 54. 57. 63; **3**. 24. 100. — Bocklisch, Berichte d. chem. Gesellsch. **18**. 1925. — Ladenburg, Berichte d. chem. Gesellsch. **19**. 780. — v. Udránszky u. Baumann, Ber. **21**. 2744 u. a. a. O.

löslich in kaltem Weingeist, leicht beim Erwärmen; Gegenwart fremder Substanzen in den Lösungsmitteln erhöht die Löslichkeit wie beim Benzoyl-Cadaverin. Die Verbindung sublimirt beim Erhitzen unzersetzt. Beim Erhitzen in alkoholischer Lösung mit Salzsäure zersetzt sie sich leichter als die des Cadaverins. Sie wird gewonnen wie die des Cadaverins (v. Udránszky und Baumann).

II. Cadaverin.



$C_5H_{14}N_2$.



$H_2N(CH_2)_5NH_2$.

Pentamethylendiamin.

Eigenschaften.[1]) 1. Das Pentamethylendiamin bildet eine farblose syrupöse Flüssigkeit von eigenthümlichen Spermageruch, raucht an der Luft, erstarrt in einer Kältemischung krystallinisch und schmilzt bei gewöhnlicher Temperatur wieder, siedet bei 178—179°, destillirt mit Kalilauge sowie mit Natronkalk unzersetzt, ist optisch inactiv, wenig giftig (entzündungserregend). Löst sich leicht in Wasser, schwer in Alkohol, sehr schwer in Aether.

2. Es ist eine zweisäurige Basis. Es zieht begierig Kohlensäure an und erstarrt dabei krystallinisch. — Mit Salzsäure und mit Schwefelsäure bildet es krystallisirende Salze, welche in Wasser, Weingeist und Aetheralkohol löslich, in absolutem Alkohol und in reinem Aether unlöslich sind. Das Chlorhydrat $C_5H_{14}N_2 . 2HCl$ besteht aus Nadeln, welche an der Luft zerfliessen. — Das Chloroplatinat $C_5H_{14}N_2, H_2PtCl_6$, rothgelbe vierseitige, an einem Ende zugespitzte Prismen, oder dem Platinsalmiak ähnliche Oktaëder, oder auch Nadelbüschel, nach Werigo glänzende braunrothe Plättchen, ist schwer löslich (in 113 Theilen Wasser von 12°). — Das Chloraurat (trocken) $C_5H_{14}N_2, 2HAuCl_4$ bildet lange, stark glänzende, gelbe, im Exsiccator verwitternde Nadeln oder Würfel und ist leicht löslich. — Von Verbindungen mit Quecksilberchlorid sind drei bekannt: $C_5H_{14}N_2, 2HCl, 2HgCl_2$; $C_5H_{14}N_2, 2HCl, 3HgCl_2$ und $C_5H_{14}N_2, 2HCl, 4HgCl_2$. Die erste entsteht nach Werigo aus dem Chlorid beim Behandeln desselben mit Quecksilberoxyd und einem Ueberschuss von Quecksilberchlorid, die zweite beim Vermischen einer wässrigen Lösung des Chlorids mit 4 Mol. Sublimat, die dritte bei Zusatz eines grösseren Ueberschusses von Quecksilberchlorid. Sie sind krystallinisch; die mit $4HgCl_2$ bildet farblose lange Nadeln oder Plättchen, ist, wie die beiden anderen, in kaltem Wasser schwer, in heissem leicht löslich und schmilzt

---

[1]) A. Ladenburg, Berichte d. chem. Gesellsch. **16**. 1149, **18**. 2957 u. 3100, **19**. 780 u. 2586, **20**. 2217. — L. Brieger, Untersuchungen über Ptomaine **2**. 36. 1885; **3**. 24. 50. 54. 98. 1886. — Bocklisch, Berichte d. chem. Gesellsch. **18**. 1925; **20**. 1442 u. 1445. — v. Udránszky u. Baumann, a. a. O.

bei 214—216°; das Salz von Werigo bildet mikroskopische weisse glänzende Plättchen. Auch aus alkoholischer Lösung wird das salzsaure Cadaverin durch alkoholische Sublimatlösung gefällt. — Das Pikrat $C_5H_{14}N_2$, $2C_6H_2(NO_2)_3OH$, dünne gelbe Nadeln oder langgestreckte Tafeln, schmilzt bei 221° unter Gasentwicklung und ist in Wasser fast unlöslich. — Das neutrale Oxalat $C_5H_{14}N_2 . H_2C_2O_4$, $2H_2O$ bildet Nadeln und schmilzt bei 160°; das saure Oxalat $C_5H_{14}N_2 . 2C_2H_2O_4$, H_2O Plättchen vom Schmelzpunkt 143°. Beide Salze sind zwar in verdünntem Alkohol löslich, aber nicht in absolutem Alkohol und in Aether.

3. Die freie Basis, sowie das Chlorid geben ausserdem mit den gebräuchlichen Alkaloidreagentien Niederschläge.

Der Niederschlag der freien Basis mit Phosphorwolframsäure ist weiss, im Ueberschuss löslich, mit Phosphormolybdänsäure weiss, krystallinisch im Ueberschuss löslich, mit Phosphorantimonsäure weiss krystallinisch, mit Kaliumquecksilberjodid harzig, mit Kaliumkadmiumjodid anfangs harzig, später in Krystallwarzen übergehend, mit Kaliumwismuthjodid und mit Jodjodkalium braun, mit Jodjodwasserstoff entstehen braune Nadeln, der Niederschlag mit Gerbsäure ist weiss, amorph. Kaliumplatinsulfocyanid fällt es nach Guareschi wie andere Amine auch. Metaphosphorsäure schlägt nach Schlömann[1]) das Pentamethylendiamin, wie die Diamine überhaupt, nieder.

Vom Chlorid hat der Niederschlag folgende Beschaffenheit: mit Phosphorwolframsäure weiss, im Ueberschuss leicht löslich, mit Phosphormolybdänsäure weiss, krystallinisch, mit Kaliumwismuthjodid rothe Nadeln, mit Jodjodkalium und mit Jodjodwasserstoff braune Nadeln, mit chromsaurem Kali und concentrirter Schwefelsäure rothbraun, bald verschwindend.

Eine Mischung von Ferricyankalium und Eisenchlorid wird durch die reine Basis nicht blau gefärbt.

4. Dibenzoyl-Pentamethylendiamin, $C_5H_{10}(NH\text{-}CO . C_6H_5)_2$ (v. Udránszky und Baumann), krystallisirt in langen Nadeln und Plättchen, schmilzt bei 120—130°, löst sich leicht in Weingeist, fast gar nicht in Aether, so gut wie nicht in Wasser; die Gegenwart fremder Substanzen in diesen Lösungsmitteln (Benzoësäure in Aether, Salze in Wasser) erhöht die Löslichkeit des Diamins. Verdünnte Säuren und Alkalien verändern die Verbindung beim Kochen nicht. Concentrirte Schwefelsäure löst die Verbindung leicht, und Wasser fällt sie wieder unverändert. Erst bei tagelangem Kochen (mit concentrirter Salzsäure in alkoholischer Lösung) erfolgt Spaltung derselben. Sie entsteht durch Schütteln einer wässrigen Lösung der freien Basis mit Benzoylchlorid und Natronlauge.

Auf 10 cc Benzoylchlorid werden 80 cc Natronlauge von 10% verwendet. Der entstehende Niederschlag wird in Weingeist gelöst, und die Lösung durch viel Wasser gefällt, wobei die Benzoylverbindung aus der zunächst milchigen Flüssig-

---

[1]) Guareschi, Ber. d. chem. Gesellsch. 25. Ref. 7. 1892. — W. Schlömann, Ber. d. chem. Gesellsch. 26. 1021. 1893.

keit auskrystallisirt. Es lassen sich so noch einige mg der Basis nachweisen. Die Lösung der Basis braucht dazu nicht rein zu sein.

5. Bei raschem Erhitzen zerfällt das Chlorid in Salmiak und Piperidin $CH_2 < \begin{matrix} CH_2 - CH_2 \\ CH_2 - CH_2 \end{matrix} > NH$.

B. *Darstellung* und *Nachweis*. a. Die Tagesmenge Harn (1500 cc) wird nach v. Udránszky und Baumann[1]) mit 200 cc Natronlauge von 10 % und 20—25 cc Benzoylchlorid so lang geschüttelt, bis der Geruch nach diesem verschwunden ist, wobei ein gelblich weisser Niederschlag von unlöslichen Phosphaten, sowie den Benzoylverbindungen der normalen Kohlenhydrate und des grösseren Theils der Diamine entsteht. Ein anderer, geringerer Theil der Diamine bleibt in der salzhaltigen Flüssigkeit in Lösung. Der Niederschlag wird mit Weingeist digerirt und das bräunliche Filtrat nach dem Verdunsten auf ein kleines Volumen in das etwa 30fache Volumen kalten Wassers gegossen, worauf sich die Benzoyldiamine in nadelförmigen Krystallen abscheiden. Nach ein- oder mehrtägigem Stehen wird der Niederschlag von der milchig trüben Flüssigkeit abfiltrirt und so lang gewaschen, bis das Filtrat ganz klar abläuft. Die Trübung rührt von den Benzoylverbindungen der Kohlenhydrate her. Man löst dann nochmals in Weingeist und fällt wieder durch Wasser.

Um den in Lösung gebliebenen Antheil der Diamine zu gewinnen, säuert man den vom Benzoylniederschlag abfiltrirten Harn mit Schwefelsäure stark an und schüttelt ihn 3 mal mit dem gleichen Vol. von gewöhnlichem (alkoholhaltigen) Aether. Dieser löst die durch die Schwefelsäure abgeschiedene Benzoësäure, das Benzoylcystin und die Benzoyldiamine. Von der Lösung wird der Aether abdestillirt, der Rückstand, bevor er erstarrt, in ungefähr soviel 12proc. Natronlauge eingetragen, als zur Neutralisation erforderlich ist, die Flüssigkeit noch mit dem 3—4fachen Vol. derselben Lauge versetzt und in die Kälte gestellt. Es scheiden sich dann die Natriumverbindungen des Benzoylcystins und die Benzoyldiamine in langen Nadeln und Plättchen ab. Nach 12—24 Stunden saugt man die Mutterlauge von den Krystallen mit der Pumpe ab und wäscht die Krystalle mit wenig kalter Natronlauge. Wasser löst aus dem Gemeng das Benzoylcystin; die zurückbleibenden Benzoyldiamine werden in wenig warmem Weingeist gelöst und aus dieser Lösung durch viel Wasser gefällt.

Liegt ein Gemeng der Benzoylverbindungen beider Diamine vor, worüber der Schmelzpunkt Aufschluss giebt, so löst man die Krystalle in möglichst wenig warmem Weingeist und giesst die Lösung in das 20fache Volumen Aether, worauf die Benzoylverbindung des Tetramethylendiamins auskrystallisirt, die des Cadaverins in Lösung bleibt. Beim Verdunsten ihrer Lösung krystallisirt auch diese. Durch Umkrystallisiren aus Weingeist erhält man beide Verbindungen rein. Beide Verbindungen lassen sich so fast ohne Verlust trennen.

Die Fällbarkeit der Basen durch Benzoylchlorid ist eine sehr grosse; bei einer Verdünnung von 1 : 10000 lässt sich das Cadaverin aus wäss-

---

1) L. v. Udránszky u. E. Baumann, Ztschr. f. physiol. Ch. **13**. 564. 1889.

riger Lösung fast vollständig gewinnen; aus einer Lösung von Putrescin in Harn gleicher Stärke erhielten v. Udránszky und Baumann 60 % der Basis wieder.

Aus einer wässrigen Lösung der Basen erhält man bei 1 : 10 000 durch Pikrinsäure zwar nach einiger Zeit lange Nadeln der Pikrate, aus Harn aber so wenig, dass sich die Pikrinsäure zum Fällen der Basen aus Harn nicht eignet.

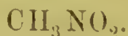
b. Stadthagen u. Brieger[1]) haben sich noch eines anderen Verfahrens bedient. Der mit Salzsäure schwach angesäuerte und alsdann eingedampfte Harn wurde wiederholt mit Alkohol extrahirt, der Auszug mit dem gleichen Volumen Wasser verdünnt und mit Quecksilberchlorid und Natriumcarbonat gefällt. Der Niederschlag wurde mit Schwefelwasserstoff zerlegt und die als Chlorid in Lösung befindliche Basis mit pikrinsaurem Natron als Pikrat gefällt. Nach Abtrennung des pikrinsauren Kreatinins und Kalis besass das Pikrat den Schmelzpunkt (221 °) und die Zusammensetzung des pikrinsauren Cadaverins.

Die Benzoylverbindungen werden als solche aus ihren sich schon bei der Darstellung ergebenden Löslichkeitsverhältnissen, ihren Schmelzpunkten und aus ihrer Zusammensetzung (mindestens Stickstoffbestimmung) erkannt. Liegen die Basen in anderer Form, und in nicht zu geringer Menge vor, so lassen sie sich nach Brieger noch in anderer Weise trennen und kennzeichnen.

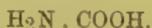
Von den Sublimatverbindungen ist die des Putrescins in kaltem Wasser leicht löslich, die des Cadaverins schwer löslich. — Aus heissem 96 proc. Alkohol krystallisirt das salzsaure Putrescin beim Erkalten in Nadeln, während das salzsaure Cadaverin in Lösung bleibt und als Platinsalz weiter gereinigt werden kann. — Das Chloraurat des Putrescins ist ziemlich schwer löslich, das des Cadaverins dagegen leicht.

§ 30. Amidosäuren.

I. Carbaminsäure.



CH_3NO_2.



$H_2N . COOH$.

Syn.: Amidoameisensäure.

A. *Vorkommen.* Die Carbaminsäure wurde von Abel u. Drechsel im Pferdeharn (bei alkalischer Reaction desselben) aufgefunden. In grösserer Menge tritt sie auf nach Abel u. Muirhead im Harn der Hunde und des Menschen nach kalkreicher Nahrung, ferner nach Hahn u. Nencki bei hochgradiger Störung der Leberthätigkeit, aber nach Hahn u. Nencki[2]) kommt sie auch unter normalen Verhältnissen im Harn der Menschen und Thiere öfter in kleineren Mengen vor.

Hahn und Nencki haben die Carbaminsäure mehrere Male im normalen sauren Harn von Hunden und Menschen nachgewiesen, ferner auch in saurem Pferdeharn, im Harn von Ziegen und Kaninchen. In grosser Menge erscheint sie

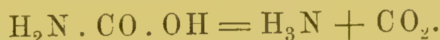
---

[1]) M. Stadthagen u. L. Brieger, Berliner klin. Wochenschr. 1889. 345.

[2]) John J. Abel u. E. Drechsel, Du Bois' Archiv 1891. 236. — Abel u. Muirhead, Archiv f. exper. Pathol. **31**. 15; **32**. 467. 1893. — M. Hahn u. M. Nencki, Archives des sc. biologiques **1**. 467. 1892; Archiv f. exper. Pathol. **32**. 185. 1893.

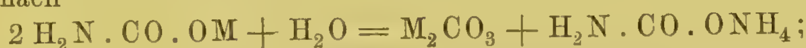
im Harn von Hunden und von Menschen nach Verabreichung von viel Kalkhydrat zur gewöhnlichen Nahrung, im Harn von Hunden nach Abel und Muirhead auch nach Verfütterung von jungem Knochengewebe. Reich daran ist der Harn von Hunden mit Eck'scher Venenfistel, namentlich nach gleichzeitiger Unterbindung der Leberarterie (Hahn und Nencki). Sie findet sich nach Nencki und Hahn auch vor im Harn entleberter Gänse. Lieblein sah sie in geringen Mengen auftreten nach theilweiser Verödung der Leber durch Injection von verdünnter Schwefelsäure in den Gallengang. Bei Lebercirrhose sah sie Weintraud niemals auftreten. Nach Injection von cyansaurem Natron in eine Vene tritt nach Hofmeister[1]) Carbaminsäure im Harn auf.

B. *Eigenschaften.* 1. Die Carbaminsäure ist unbeständig; sie zerfällt nach ihrer Abscheidung aus den Salzen sofort in Kohlensäure und Ammoniak nach



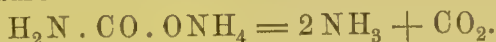
$$H_2N . CO . OH = H_3N + CO_2.$$

2. Die namentlich von Drechsel untersuchten Salze sind löslich in Wasser, aus der wässrigen Lösung fällbar durch Alkohol. In alkalischer wässriger Lösung unlösliche oder schwer lösliche Metallsalze haben nicht dargestellt werden können (Hahn u. Nencki[2]). In wässriger Lösung beginnen sie sich sogleich zu zersetzen, schneller zersetzen sie sich in der Wärme zu carbaminsaurem Ammon und zu Carbonat nach



$$2\, H_2N . CO . OM + H_2O = M_2CO_3 + H_2N . CO . ONH_4;$$

das carbaminsaure Ammon zerfällt dabei in (2 Mol.) Ammoniak und (1 Mol.) Kohlensäure



$$H_2N . CO . ONH_4 = 2\, NH_3 + CO_2.$$

In ammoniakalischer Lösung sind die Salze viel beständiger und die schwer löslichen lassen sich aus starkem Ammoniak ohne Zersetzung umkrystallisiren. Säuren zersetzen die Salze unter Bildung der Zersetzungsprodukte der freien Säure.

a. Ammonsalz. Eine Lösung von reinem carbaminsauren Ammon wird durch Chlorcalcium nicht gefällt, während kohlensaures Ammon, auch in Gegenwart von Carbamat, mit dem Reagens einen anfangs amorphen Niederschlag giebt, der beim Schütteln bald krystallinisch wird. In wässriger Lösung zersetzt es sich schnell unter Bildung von kohlensaurem Ammon, aber nicht vollständig, wie umgekehrt kohlensaures Ammon in wässriger Lösung zum Theil in carbaminsaures übergeht (Grenzreaction). In Gegenwart von Ammoniak zersetzt sich das Salz noch weniger vollständig, und eine solche Lösung lässt sich lange Zeit ohne vollständige Zersetzung kochen; mit dem Entweichen des Ammoniaks wird die Zersetzlichkeit erhöht.

b. Das Natrium- und das Kaliumsalz krystallisiren. Werden die krystallwasserhaltigen Salze erhitzt, so zersetzen sie sich zu carbaminsaurem Ammon und zu ihrem Carbonat, wie in wässriger Lösung; die wasserfreien Salze liefern dagegen Cyansäure



$$NH_2 . CO . ONa = CNONa + H_2O.$$

---

[1]) Hahn u. Nencki, Arch. f. exper. Pathol. **32**. 200. — V. Lieblein, daselbst **33**. 327. 1894. — W. Weintraud, daselbst **31**. 39. — F. Hofmeister, daselbst **37**. 444. 1896.

[2]) E. Drechsel, Journ. f. prakt. Ch. [2] **16**. 180. 1877 u. a. a. O. — Hahn u. Nencki, Arch. f. exper. Pathol. **32**. 201.

c. Das Calciumsalz, $2(NH_2.CO.O)_2$ Ca, H_2O krystallisirt aus seiner gesättigten Lösung in (30—40°) warmem concentrirten Ammoniak beim Erkalten oder starken Abkühlen in 1—2 Mmtr. langen vierseitigen Prismen. Aus wässriger Lösung wird es durch Alkohol amorph gefällt, der Niederschlag verwandelt sich aber allmählich in mikroskopisch kleine flache, dem Gyps ähnliche Krystalle. Das Salz löst sich ziemlich leicht in Wasser und giebt eine klare Lösung, welche sich aber schon nach ½ Min. unter Abscheidung von kohlensaurem Kalk und unter Entwicklung von Kohlensäure und Ammoniak zu trüben beginnt. Es hält sich in ammoniakalischer Lösung um so länger unzersetzt, je stärker das Ammoniak ist, auch in der Wärme. Selbst ziemlich schwaches Ammoniak hindert die Zersetzung des Salzes bei gewöhnlicher Temperatur in hohem Grade, aber beim Erwärmen (auf ungefähr 50°) tritt ein Niederschlag von kohlensaurem Kalk auf. Aus starkem Ammoniak lässt sich das Salz umkrystallisiren. Es wird aber nach Hahn u. Nencki[1]) sowohl aus Harn wie bei der künstlichen Darstellung ein Salz erhalten, welches sehr beständig ist, vielleicht ein Gemisch von normalem und basischem Salz. Kohlensaures Natron giebt mit einer reinen Lösung des Salzes sogleich einen Niederschlag von kohlensaurem Kalk.

Das frisch bereitete krystallinische Salz ist anfangs geruchlos, entwickelt aber schon nach einigen Stunden einen schwachen Geruch nach Ammoniak. Beim Erhitzen giebt es Ammoniak aus und liefert ein krystallinisches Sublimat, vielleicht von carbaminsaurem und kohlensaurem Ammon. Beim Erhitzen auf 75°—100° zersetzt sich eine Hälfte des Salzes, wie in wässriger Lösung, zu carbaminsaurem Ammon, welches entweicht, und zu kohlensaurem Kalk, welcher neben der anderen Hälfte des carbaminsauren Salzes zurückbleibt. Das feste Produkt giebt eine Lösung, welche sich wie die eines carbaminsauren Salzes verhält.

Ein basisches Kalksalz ist nicht bekannt. Es würde die Zusammensetzung $NH_2.CO.O.Ca.OH$ besitzen und beim Zersetzen für sich in $CaCO_3$ und NH_3 zerfallen, mit Säuren aber auf 1 Mol. CO_2 1 Mol. NH_3 liefern.

d. Das Lithium- und das Baryumsalz sind nicht in fester Form bekannt. Das Strontiumsalz krystallisirt wasserfrei und ist in trockenem Zustand haltbar, verhält sich aber im Uebrigen wie das Baryumsalz.

3. Die Ester der Carbaminsäure (Urethane) sind beständiger als die Salze. Der Aethylester krystallisirt aus wasserfreiem Aether in Plättchen, aus heissem Petroläther in seidenglänzenden langen Nadeln, nach Jaffé aus Chloroform auf Zusatz von Petroläther in dicken Prismen, schmilzt bei 50°, siedet bei 180—184° und lässt sich nach Jaffé bei vorsichtigem Erhitzen sublimiren. Bei schnellem Erhitzen zersetzt er sich. Er löst sich sehr leicht in Wasser, Alkohol, Aether, Chloroform, Benzol, sehr schwer in Petroläther. Zersetzt sich nach Jacquemin schon in der Kälte mit Alkalihydrat langsam, bei 30°

---

1) Hahn u. Nencki, Arch. f. exper. Pathol. 32. 199.

etwas schneller, in Ammoniak, Kohlensäure und Alkohol, beim Kochen sogleich; seine klare Lösung in Barytwasser giebt nach Jaffé bei einmaligem Aufkochen unter Ammoniakentwicklung einen voluminösen krystallinischen Niederschlag von kohlensaurem Baryt; Harnstoff zersetzt sich beim Kochen mit Barytwasser viel schwieriger. Mit alkoholischer Kalihydratlösung zerfällt er nach Mulder schon in der Kälte in Kaliumcyanat und Alkohol. Setzt sich mit Ammoniak bei 180° zu Harnstoff um.

Giebt mit Quecksilberchlorid und Kalihydrat einen voluminösen weissen Niederschlag (Jacquemin) von $NHg.CO.OC_2H_5$ (Mulder), mit Silbernitrat und Kalilauge einen ziegelrothen, sich bald schwärzenden Niederschlag (Jacquemin). Eine Urethanlösung erstarrt nach Jaffé mit 10 proc. Furfurollösung und einigen Tropfen Salzsäure bei niederer Temperatur in kurzer Zeit zu einem Brei feiner langer, in Wasser sehr leicht löslicher, bei 169° schmelzender Nadeln $C_4H_3O.CH(NH.CO.OC_2H_5)_2$. Liefert nach Skinner und Ruhemann[1]) beim Erhitzen mit 1 Mol. Phenylhydrazin Phenylsemicarbazid $H_2N.CO.OC_2H_5 + H_2N.NH.C_6H_5 = H_2N.CO.HN.NH.C_6H_5 + C_2H_5.OH$, und mit 2 Mol. Phenylhydrazin Diphenylcarbazid $C_6H_5.HN\text{-}NH.CO.NH\text{-}HN.C_6H_5$, verhält sich also gegen Phenylhydrazin wie der Harnstoff.

Der Ester entsteht in kleiner Menge bei anhaltendem Kochen von Harnstoff am Rückflusskühler (Hofmann), meist schon beim Verdunsten einer alkoholischen Harnstofflösung in offener Schale (Jaffé). Er entsteht daher bei der Extraction eingedampften Harns mit heissem Alkohol, und zwar in grösserer Menge als aus der entsprechenden Menge reinen Harnstoffs (Jaffé). Der Harn selbst enthält kein Urethan (Jacquemin). Auch bildet er sich nach Bunte[2]) beim Erhitzen von salpetersaurem Harnstoff mit absolutem Alkohol auf 120—130°.

4. Das Amid der Amidoameisensäure ist der Harnstoff.

C. *Darstellung.* Abel und Drechsel[3]) haben für die Darstellung der Carbaminsäure folgende Vorschriften gegeben.

Der Harn wird mit einer reichlichen Menge frisch bereiteter dicklicher Kalkmilch 5—10 Minuten lang tüchtig geschüttelt und darauf erst centrifugirt oder auch sogleich filtrirt, was gut von Statten geht, wenn dem Harn viel Kalkbrei zugesetzt war. Das klare Filtrat, welches mit Kalkwasser keinen Niederschlag mehr geben darf, wird mit Chlorcalcium versetzt, um etwa noch in Lösung vorhandenes Carbonat in das Calciumsalz überzuführen und mit etwas krystallisirtem kohlensauren Kalk in einem verschlossenen Gefäss 15 Minuten lang kräftig geschüttelt. Hierdurch wird der noch in Lösung befindliche amorphe kohlensaure Kalk gleichfalls krystallinisch und so zur Abscheidung gebracht. Der Niederschlag

---

1) M. Jaffé, Ztschr. f. physiol. Ch. **14**. 395. 1890. — Mulder, Recueil des trav. chim. des Pays-Bas **6**. 168. 1887; Ch. Centralbl. 1887. 1114. — G. Jacquemin, Bull. de la Soc. chim. [2] **46**. 306. 1886. — S. Skinner u. S. Ruhemann, Ber. d. chem. Gesellsch. **20**. 3372. 1887; Journ. of. the chem. Soc. **53**. 551. 1888.

2) A. W. Hofmann, Ber. d. chem. Gesellsch. **4**. 268. 1871. — Jaffé, a. a. O. — Jacquemin, a. a. O. 808. — H. Bunte, Ann. d. Ch. u. Pharm. **151**. 181. 1869.

3) Abel u. Drechsel, a. a. O. 238.

setzt sich im Eisschrank bald ab. Man filtrirt dann die Flüssigkeit in das dreifache Volumen auf 0^0 abgekühlten Alkohol und lässt die Mischung wieder im Eisschrank stehen, bis sich der Niederschlag abgesetzt hat, was in 1/2 Tag der Fall ist. Die Flüssigkeit wird abgehebert, der bräunliche flockige amorphe Niederschlag centrifugirt, auf einem Saugfilter mit Alkohol und mit Aether gewaschen und im Vacuum über Schwefelsäure getrocknet. Darauf löst man den Niederschlag in Ammoniakflüssigkeit gewöhnlicher Concentration (10 proc.), versetzt das Filtrat mit absolutem Alkohol bis zur bleibenden Trübung, lässt den Niederschlag sich im Eisschrank absetzen, bewirkt dann nochmals einen ebenso geringen Niederschlag und fällt dann endlich des Filtrat mit Alkohol völlig aus. Diese Hauptmasse der Substanz wird, wenn sie sich im Eisschrank abgesetzt hat, auf dem Saugfilter wieder mit Alkohol und mit Aether gewaschen und darnach im Vacuum über Schwefelsäure getrocknet. Aus dem alkoholischen Filtrat fällt Aether nach Abel und Muirhead nur noch wenig Carbamat.

Die hellbraune poröse Substanz riecht nicht nach Ammoniak und löst sich vollständig in viel Wasser. Die Lösung trübt sich nach kurzer Zeit in Zimmertemperatur, beim Erwärmen sofort, unter Entwicklung von Ammoniak und unter Abscheidung von kohlensaurem Kalk. Lässt man die Lösung in einem mit ihr fast ganz angefüllten luftdicht verschlossenen Glase in der Kälte stehen, so scheiden sich nach längerer Zeit erst ein pulvriger Niederschlag und dann noch grössere Krystalle von kohlensaurem Kalk ab. Die Lösung verhält sich also ganz wie eine solche von carbaminsaurem Kalk, das Präparat besteht aber keineswegs aus diesem allein, sondern enthält nach den Erfahrungen von Abel und Drechsel, Abel und Muirhead, Hahn und Nencki neben Gyps noch eine sehr grosse Menge ätherschwefelsaurer Salze, besteht sogar hauptsächlich aus diesen. Hahn und Nencki[1]) fanden darin auch einmal flüchtige Fettsäuren (Essigsäure).

Das gereinigte Salz liefert bei der Zersetzung durch Kochen auf das gebildete Ammoniak auch mehr Kohlensäure wie carbaminsaurer Kalk. Bei der Bestimmung des Ammoniaks, welches beim Kochen einer klaren Lösung entwich, und der der Kohlensäure in dem ausgefallenen Calciumcarbonat wurde gefunden auf 1 Mol. CO_2 von Abel und Drechsel 1,74 Mol. NH_3, von Abel und Muirhead 1,10, 1,52, nach dem Umkrystallisiren aus Ammoniak 1,51, und nur einmal (aus der filtrirten Lösung in Kalkwasser) 1,98, von Hahn und Nencki[2]) im günstigsten Fall 1,7, sonst nur 1,2 NH_3. Aus einem nicht weiter gereinigten Salz erhielten Abel u. Drechsel in derselben Weise auf 1 CO_2 gar nur 0,75 NH_3. Carbaminsaurer Kalk soll aber nach der Rechnung auf 1 CO_2 2 NH_3 liefern. — Bei der Zersetzung des Carbamats durch Säure werden CO_2 und NH_3 nach gleichen Mol. gebildet. Hahn und Nencki erhielten dabei auf 1 CO_2 0,53—2,9 NH_3, Abel und Drechsel bei der Untersuchung von rohem Salz auf 1 CO_2 nur 0,25 NH_3.

Das aus dem Harn dargestellte carbaminsaure Salz enthält also noch ein anderes, welches sowohl beim Erhitzen für sich wie unter Zusatz von Säure entweder blos Kohlensäure liefert, oder auf das Ammoniak doch mehr Kohlensäure, als das carbaminsaure Salz. Dafür spricht auch die von Abel und Muirhead[3]) wahrgenommene Thatsache, dass das Filtrat von dem durch Kochen zersetzten Kalksalz beim Stehen sowie bei weiterem Kochen noch kohlensauren Kalk absetzt. Dieses Salz kann weder das basische Salz $H_2N . CO . OCaOH$, noch ein Doppelsalz $(NH_2CO . O)_2Ca, CaCO_3$ sein; denn das basische Salz liefert zwar mit Säure gleiche Mol. CO_2 und NH_3, das Doppelsalz auf 3 CO_2 2 NH_3, aber beim Kochen für sich kann das basische Salz nur Ammoniak abgeben, und das Doppelsalz, welches sich beim Erhitzen im trockenen Zustand auf 100^0 nicht zersetzt, würde, wenn es beim Kochen seiner wässerigen Lösung zerlegt würde, auf 1 CO_2 auch 2 NH_3 liefern.

---

1) Hahn u. Nencki, Arch. f. exper. Path. **32**. 193.
2) Hahn u. Nencki, a. a. O. 201 u. 197.
3) Abel u. Muirhead, a. a. O. 22.

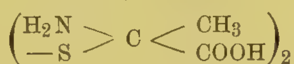
Ein anderes von Abel und Drechsel[1]) versuchtes Verfahren zur Darstellung der carbaminsauren Kalks aus Harn hat kein besseres Resultat ergeben, als das beschriebene.

D. *Nachweis.* Carbamat enthaltender Harn entwickelt bei natürlich alkalischer Reaction nach Abel und Muirhead beim Stehen auch in sterilisirtem Zustand Ammoniak. Ein solcher Befund ist jedoch für sich allein nicht beweisend. Man hat vielmehr das Kalksalz nach Abel und Drechsel darzustellen. Als carbaminsaures wird es daran erkannt, dass seine Lösung bei gewöhnlicher Temperatur unter Entwicklung von Ammoniak kohlensauren Kalk absetzt, der sich in Essigsäure vollständig lösen muss. Tritt diese Zersetzung nicht ein, so ist es nach Hahn und Nencki[2]) noch statthaft, die Lösung in einem ganz vollen, gut verschlossenen Glas längere Zeit einer Temperatur von 30° auszusetzen. Die Entwicklung von Ammoniak und die Abscheidung von kohlensaurem Kalk beim Kochen beweist für sich die Gegenwart von carbaminsaurem Kalk nicht, denn cyansaurer Kalk verhält sich ebenso.

II. Cystin.



$(C_3H_6NSO_2)_2$.



$\left(\begin{matrix} H_2N \\ -S \end{matrix} > C < \begin{matrix} CH_3 \\ COOH \end{matrix}\right)_2$

Die Formel des Cystins ist von Thaulow aufgestellt und von E. Külz[3]) bestätigt worden.

A. *Vorkommen.* Das Cystin kommt im Harn mancher Individuen, auch bei Verwandten, in Mengen bis zu 0,5 g und darüber im Tag constant vor, scheidet sich dann häufig als Sediment aus oder giebt Anlass zur Bildung von Blasenconcrementen. v. Udránszky und Baumann nehmen an, dass zwischen der Bildung von Diaminen durch eine eigenthümliche Darmfäulniss bei der Cystinurie und dieser selbst irgend ein Zusammenhang bestehe, während Stadthagen und Brieger die Cystinurie als die Folge einer Darmmykose betrachten. Aber auch aus normalem, von Diaminen freien Harn (des Menschen und Hundes) lässt sich nach Goldmann und Baumann[4]) eine dem Cystin ähnliche Substanz in kleinen Mengen abscheiden, in grösseren (beim Hund) nach der Vergiftung mit Phosphor.

---

1) Abel u. Drechsel, a. a. O. 240.

2) Hahn u. Nencki, Archives a. a. O. 471; Arch. f. exper. Pathol. a. a. O. 199.

3) Thaulow, Ann. d. Ch. u. Pharm. **27**. 197. — E. Külz, Ztschr. f. Biol. **20**. 1. 1884.

4) L. v. Udránszky u. E. Baumann, Ztschr. f. physiol. Ch. **13**. 583. 587. f. 592. 594. 1889; **15**. 77. 1890. — M. Stadthagen u. L. Brieger, Berliner klin. Wochenschr. 1889. 344. — E. Goldmann u. E. Baumann, Ztschr. f. physiol. Ch. **12**. 254. 1888.

Fälle von Cystinurie bei Blutsverwandten sind u. A. von Toel und von Pfeiffer beschrieben worden, ein Fall von transitorischer Cystinurie bei Gelenksrheumatismus von Ebstein. — Nach Leo ist die durch Essigsäure abscheidbare Menge Cystin unabhängig von der Art der Nahrung und von der Muskelthätigkeit und nach García[1]) setzt eine vorwiegende Ernährung mit Kohlenhydraten die Menge des Cystins nicht herab.

B. *Eigenschaften.* 1. Es krystallisirt zumeist in schönen farblosen sechsseitigen Täfelchen, deren Winkel (120° nach Niemann[2]) und Seiten alle gleich gross sind (Taf. II, Fig. 1, untere Hälfte); seltener kommen sechsseitige Tafeln vor, an denen zwei einander gegenüberliegende Seiten grösser oder kleiner sind als die 4 anderen; auch finden sich prismatische Formen.

Das aus Ammoniak auf dem Objectträger auskrystallisirte Cystin bildet meist Tafeln mit ungleich langen Seiten, oft mit einer dunklen Druse im Inneren, auch dem salpetersauren Harnstoff ähnliche Geschiebe.

2. Es löst sich nicht in Wasser, Alkohol oder Aether, aber in Mineralsäuren und in Oxalsäure, ebenso nach Mester in nativ saurem Harn zu ungefähr 0,05 %, womit die Erfahrungen von Borissow[3]) über den Gehalt des Harns an Cystin übereinstimmen; es löst sich nicht in Essigsäure oder Weinsäure; in den einfach und doppelt kohlensauren Alkalien und in Alkalihydraten löst es sich, auch in Ammoniak, aber nicht in kohlensaurem Ammon; aus den alkalischen Lösungen wird es durch Essigsäure, aus den sauren durch kohlensaures Ammon wieder gefällt. Die amoniakalische Lösung hinterlässt es beim Verdunsten unverändert.

3. Giebt mit Mineralsäuren krystallisirende aber leicht zerlegliche Salze, mit Quecksilberchlorid nach Suter[4]) eine unlösliche Verbindung, welche auch aus stark saurer Lösung des Cystins mehr oder minder vollständig abgeschieden wird.

4. Lösungen des Cystins drehen die Ebene des polarisirten Lichtes stark nach links. In ammoniakalischer Lösung dreht das Cystin schwächer als in salzsaurer.

Für die 1 proc. ammoniakalische Lösung bestimmte Külz $[\alpha]_j = -142^0$, für die 0,84 und 2,1 proc. Lösung in starker Salzsäure fand Mauthner $[\alpha]_D = -205{,}9^0$, für die 2,13 proc. Lösung in schwacher Salzsäure Baumann[5]) $[\alpha]_D = -214^0$.

---

1) F. Toel, Ann. d. Ch. u. Pharm. **96**. 247. 1885. — E. Pfeiffer, Centralbl. f. d. Krankheiten der Harn- u. Sexualorgane 5. 187; Jahresb. f. Thierch. 1894. 632. — Arch. f. klin. Med. **23**. 138. 1878. — H. Leo, Ztschr. f. klin. Med. **16**. 325. — S. A. García, Ztschr. f. physiol. Ch. **17**. 586. 1892.

2) A. Niemann, Archiv f. klin. Med. **18**. 259. 1876.

3) B. Mester, Ztschr. f. physiol. Ch. **14**. 113. 1889. — P. Borrisow, daselbst **19**. 517. 1894.

4) F. Suter, Ztschr. f. physiol. Ch. **20**. 573. 1895.

5) Külz, Ber. d. chem. Gesellsch. **15**. 1401 u. a. a. O. 8. — J. Mauthner, Ztschr. f. physiol. Ch. **7**. 225. — E. Baumann, Ztschr. f. physiol. Ch. **8**. 303.

5. Schüttelt man eine Lösung von Cystin in Natronlauge mit Benzoylchlorid, so entsteht nach Goldmann und Baumann[1]) Benzoylcystin $\left(\begin{matrix} C_6H_5 . CO - HN \\ - S \end{matrix} > C < \begin{matrix} CH_3 \\ COOH \end{matrix}\right)_2$, eine der Hippursäure (Benzoyl-Glykokoll) analoge Verbindung, deren Natronsalz in Form eines sehr voluminösen Niederschlags von seidenglänzenden Plättchen ausfällt.

Auf Zusatz von Säure zu einer verdünnten Lösung dieses Salzes erstarrt die Flüssigkeit meist zu einer durchscheinenden Gallert, welche beim Stehen oder Erwärmen in dichtere Flocken verwandelt wird. Das Benzoylcystin ist in Wasser so gut wie unlöslich, löst sich wenig in reinem Aether, leichter in alkoholhaltigem Aether, noch leichter in Alkohol. In verdünnten oder concentrirten Säuren ist es unlöslich. Aus wässriger Lösung wird es leicht durch Aether aufgenommen. Aus Alkohol krystallisirt es in feinen biegsamen zu blumenkohlartigen Massen vereinigten Nadeln. Es schmilzt nach Brenzinger[2]) bei 180—181^0.

Es bildet als einbasische Säure mit Metallen Salze. Das Natronsalz ist leicht löslich in Wasser, aber in überschüssiger Natronlauge unlöslich, scheidet sich also auf Zusatz von viel Natronlauge (dem gleichen Vol. 10 proc. Lauge nach García, dem doppelten nach v. Udránszky u. Baumann[3]) zu seiner wässrigen Lösung ab. Das Barytsalz krystallisirt nach Brenzinger mit 5 H_2O in feinen biegsamen Nadeln, und ist in Wasser und in Alkohol löslich. Das Silbersalz bildet einen flockigen lichtempfindlichen Niederschlag, der sich kaum in Wasser und in Alkohol löst, aber leicht in warmem Ammoniak und aus dieser Lösung durch Salpetersäure wieder als Gallert gefällt wird.

Beim Kochen mit Lauge zersetzt sich das Benzoylcystin wie das Cystin selbst unter Bildung von Schwefelalkali, doch ist zum völligen Zersetzen desselben ein mehrstündiges Erhitzen auf 100^0 nöthig. In der Kälte ist es gegen Salzsäure beständig; durch Kochen mit Salzsäure zerfällt es allmählich in Benzoësäure und Cystin; im geschlossenen Rohr spaltet es sich nach Brenzinger mit Salzsäure bei 110^0 quantitativ, aber sehr langsam. Bei der Behandlung mit Zinn und Salzsäure liefert es Benzoësäure und Cystein.

Nach Mester[4]) ist bei der Darstellung des Benzoylcystins die Ausbeute zwar befriedigend, aber nicht quantitativ und in ihrer Ergiebigkeit wechselnd. Es kommt darauf an, die erforderlichen Mischungsverhältnisse zu treffen, einen erheblichen Ueberschuss an Benzoylchlorid zu vermeiden und mindestens das Siebenfache vom Benzoylchlorid an Natronlauge und zwar auf einmal zuzusetzen. Brenzinger erhielt beim Schütteln von 2 g Cystin mit 50 cc 10 proc. Natronlauge und 6 cc Benzoylchlorid nur die Hälfte, den Rest bei Wiederholung des Verfahrens mit dem Filtrat.

6. Mit cyansaurem Kali vereinigt sich das Cystin nach Brenzinger[5]) zu einer Uramidosäure, welche durch Wasserabgabe leicht in ihr Hydantoin übergeht.

7. Kocht man Cystin mit Kali- oder Natronlauge, so wird es unter Bildung von Schwefelalkali zersetzt. Die Abspaltung des Schwefels beginnt zwar sofort, so dass das Schwefelalkali sogleich nachweisbar

---

1) E. Goldmann u. E. Baumann, Ztschr. f. physiol. Ch. **12**. 254. 1888. — v. Udránszky u. Baumann, a. a. O. 565.

2) H. Brenzinger, Ztschr. f. physiol. Ch. **16**. 572. 1892.

3) S. A. García, Ztschr. f. physiol. Ch. **17**. 584. 1892. — L. v. Udránszky u. Baumann, daselbst **15**. 87. 1890.

4) B. Mester, Ztschr. f. physiol. Ch. **14**. 118.

5) Brenzinger, a. a. O. 576.

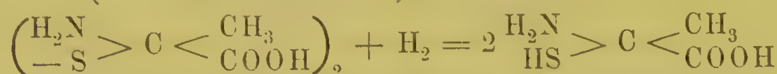
ist, vollendet sich aber nach Goldmann und Baumann selbst bei mehrstündigem Kochen noch nicht, im Harn noch langsamer als in rein wässriger Lösung. Bei $33^1/_2$ st. Behandlung von Cystin mit alkalischer Bleioxydlösung auf dem Wasserbade erhielt Suter[1]) nur 83 % des Schwefels als Schwefelblei. Das gebildete Alkalisulphhydrat lässt sich durch die dafür geeigneten Reactionen nachweisen.

a. Nach Liebig kocht man das Cystin mit einer Lösung von Bleioxyd in Lauge; die Bildung des Schwefelalkalis wird durch das Auftreten eines Niederschlags von Schwefelblei angezeigt.

b. J. Müller[2]) bedient sich dazu des Nitroprussidnatriums; die Flüssigkeit färbt sich schön violett.

c. Erwärmt man Cystin mit einigen Tropfen Natronlauge auf Silberblech (oder auf einer blanken Silbermünze), so entsteht ein nicht wegwischbarer brauner oder schwarzer Fleck von Schwefelsilber.

8. Beim Behandeln des Cystins mit Zinn und Salzsäure wird es nach Baumann[3]) (unter sehr geringer Schwefelwasserstoffentwicklung) in Cystein (α-Amidothiomilchsäure) verwandelt:



$$\left(\begin{matrix}H_2N \\ -S\end{matrix} > C < \begin{matrix}CH_3 \\ COOH\end{matrix}\right)_2 + H_2 = 2\,\begin{matrix}H_2N \\ HS\end{matrix} > C < \begin{matrix}CH_3 \\ COOH\end{matrix}$$

Das Cystein verhält sich also zu dem Cystin wie ein Mercaptan zu seinem Disulphid. Das Cystein ist eine starke Basis. Bei der Reaction wird es als salzsaures Salz erhalten. Ammoniak fällt beim Neutralisiren der alkoholischen Lösung des Chlorids das Cystein als feinkörnigen krystallinischen Niederschlag. Es ist in Wasser, Ammoniak, Essigsäure und Mineralsäuren ziemlich leicht löslich. Das salzsaure Cystein dreht links, wie das salzsaure Cystin, aber viel schwächer als dieses; $[\alpha]_D = -12{,}6^0$. Aus salzsaurer Lösung wird das Cystein nach Brenzinger durch Quecksilberchlorid vollständig als $2\,C_3H_7NO_2S$, $3\,HgCl_2$ gefällt; die Verbindung ist in kaltem Wasser und in Weingeist so gut wie unlöslich, wenig löslich in siedendem Weingeist, schwer in siedendem Wasser und beim Erkalten scheiden sich mikroskopische Krystalle ab. Es zersetzt sich mit Wasser unter Abgabe von Quecksilber und Salzsäure, giebt unter 100^0 Salzsäure ab und verliert auch im Vacuum an Gewicht. Mit Jodäthyl liefert die Quecksilberverbindung nach Brenzinger das krystallinische Aethylcystein $C_3H_6NO_2SC_2H_5$. Beim Schütteln von salzsaurem Cystein mit Benzylchlorid und Natronlauge entsteht nach Suter Benzylcystein $C_3H_6NO_2S-CH_2.C_6H_5$. Das Cystein ist nur in saurer Lösung oder in trockenem Zustand beständig. Beim Stehen der wässrigen Lösung an der Luft wird es wieder allmählich zu Cystin oxydirt; schneller erfolgt diese Umwandlung in alkalischer Lösung, augenblicklich auf Zusatz eines schwachen Oxydationsmittels zur wässrigen oder sauren Lösung. Eisenchlorid färbt beide Lösungen, wie die anderer Thioverbindungen, vorübergehend indigblau; überschüssige Salzsäure verhindert die Färbung, aber nicht die Oxydation. Versetzt man nach Andreasch eine Lösung des salzsauren Cysteins mit einigen Tropfen verdünnter Eisenchloridlösung und hierauf mit Ammoniak, so färbt sich die Flüssigkeit schön rothviolett, beim Schütteln mit Luft dunkler. Mit wenig Kupfersulphatlösung giebt Cystein, wie andere Thioverbindungen, nach Suter[4]) eine vorübergehende Violettfärbung, danach einen grauen Niederschlag.

---

1) E. Goldmann u. E. Baumann, Ztschr. f. physiol. Ch. **12**. 254. 1888. — F. Suter, daselbst **20**. 568. 1895.

2) A. Niemann, Archiv f. klin. Med. **18**. 259. 1876.

3) Baumann, Ztschr. f. physiol. Ch. **8**. 299. 1883/84; **16**. 564. 1892.

4) Brenzinger, a. a. O. 557. — Suter, daselbst **20**. 562 u. 575. — Andreasch, Jahresber. f. Thierch. 1884. 76.

9. Nach Verabreichung von Chlor-, Brom- oder Jodbenzol tritt im Harn von Hunden und Kaninchen, nach Mester aber nicht in dem des Menschen und nach Bongers[1]) nicht in dem der Hühner, als ein Glykuronsäure-Glykosid (§ 14. C. S. 200) halogensubstituirte Phenylmercaptursäure (α-Acetamido-thio-phenylpropionsäure) $\frac{CH_3.CO.HN}{C_6H_4X.S} > C < \frac{CH_3}{COOH}$, eine Verbindung von Essigsäure und halogensubstituirtem Phenol mit Cystein auf. Die Essigsäure ist darin in Form von Acetamid, das Phenol als Phenylmercaptan enthalten.

Mit der Untersuchung der Phenylmercaptursäuren haben sich beschäftigt Jaffé, Baumann u. Preusse, Schmitz, König[2]). Die gepaarten Glykuronsäuren werden schon durch verdünnte Säuren oder Alkalien sowie bei längerem Erwärmen mit Harn unter Bildung der Mercaptursäuren zersetzt. Diese sind einbasisch, in kaltem Wasser schwer löslich, leichter löslich in heissem Wasser und in Alkohol, schwer in Aether. Sie krystallisiren und besitzen alle denselben Schmelzpunkt (153^0). Ihre Alkalisalze sind löslich, das Bleisalz unlöslich, während das Bleisalz der gepaarten Säure löslich ist. Die weingeistigen Lösungen der Säuren drehen links (Jodphenylmercaptursäure $[\alpha]_D = -10{,}68^0$), die wässrigen Lösungen ihrer Salze rechts; in concentrirter Lösung besitzen die Natriumsalze der Jod- und der Bromphenylmerçaptursäure eine grössere spec. Drehung als in verdünnter.

Bei kurzem Kochen mit mässig verdünnter Schwefelsäure spalten sich die Mercaptursäuren in Essigsäure und Phenylcystein (Amidothiophenylpropionsäure), welche bei der Behandlung mit Essigsäureanhydrid wieder zur Acetamidosäure wird. Mit cyansaurem Kali giebt die Amidosäure Uramidosäure (König, Baumann u. Schmitz). Laugen zersetzen die Mercaptursäure zu Brenztraubensäure, Essigsäure, Phenylmercaptan mit dem Halogen in Parastellung und Ammoniak. Permanganat in schwach alkalischer Lösung oxydirt die Mercaptursäuren zu Sulfonen, indem die Mercaptangruppe in $-SO_2.C_6H_4X$ übergeführt wird. Beim Behandeln mit Natriumamalgam tauscht die Bromphenylmercaptursäure Brom gegen Wasserstoff aus und wird zu Phenylmercaptursäure, welche analoge Zersetzungsprodukte wie die Bromphenylmercaptursäure liefert.

Von den aromatischen Stoffen liefern nach Baumann[3]) nur die Halogenderivate des Benzols und Naphtalins und zwar nur die einfach substituirten Kohlenwasserstoffe wesentliche Mengen Mercaptursäure, ausserdem noch das Ortho-Dichlorbenzol wenig.

10. Durch chlorsaures Kali und Salzsäure werden nach Stadthagen[4]) vom Schwefel des Cystins nur 30—40 $^0/_0$ zu Schwefelsäure oxydirt; beim Schmelzen mit Salpeter ist aber die Oxydation vollständig.

11. Erwärmt man Cystin mit Salpetersäure, so löst es sich unter Zersetzung auf und hinterlässt beim Verdunsten einen rothbraunen Rückstand, der mit Ammoniak keine Murexid-Reaction giebt.

---

[1]) Mester, Ztschr. f. physiol. Ch. **14**. 147. — P. Bongers, Diss. Königsberg 1887; Centralbl. f. d. med. Wiss. 1889. 238.

[2]) Jaffé, Berichte d. chem. Gesellsch. **12**. 1093. 1879. — Baumann u. Preusse, Ztschr. f. physiol. Ch. **3**. 159. 1879; Berichte **12**. 806; Ztschr. **5**. 309. 1881. — Baumann, Ztschr. **8**. 190. 1883/84; Berichte **15**. 1731. 1882; **18**. 258. 1885. — P. Schmitz, Ueber p-Jodphenylmercaptursäure. Dissert. Freiburg i. B. 1886. — Baumann u. Schmitz, Ztschr. f. physiol. Ch. **20**. 586. 1895. — G. König, daselbst **16**. 525. 1892.

[3]) Baumann, Ztschr. f. physiol. Ch. **8**. 194.

[4]) Stadthagen, Virchow's Archiv **100**. 426. 1885.

C. *Nachweis.* 1. Man kann auf die Gegenwart von Cystin aufmerksam werden, wenn sich im Harnsediment sechsseitige Tafeln vorfinden.

Diese brauchen jedoch nicht Cystin zu sein, da auch die Harnsäure in solchen Formen krystallisiren kann, wiewohl nur in reinem Zustande farblos. Zur Unterscheidung des Cystins von der Harnsäure behandelt man das abfiltrirte Sediment in gelinder Wärme mit verdünnter Salzsäure, filtrirt, lässt erkalten und übersättigt die Flüssigkeit schwach mit kohlensaurem Ammon. Oder man digerirt noch besser das Sediment mit Ammoniakflüssigkeit, und säuert das Filtrat mit Essigsäure an. Das Cystin fällt bald darnach wieder in sechsseitigen Tafeln aus. — Von etwa beigemengten Erdphosphaten lässt es sich am Besten auch durch Ammoniak trennen, worin sich das Cystin, aber nicht die Phosphate lösen.

2. Das im Harn gelöste Cystin kann man nicht in ganzer Menge, sondern nach Mester nur zum Theil durch Zusatz von Essigsäure aus dem Harn fällen; durch den Essigsäurezusatz wird aber der mucinähnliche Körper gleichfalls abgeschieden, wodurch die Filtration ausserordentlich erschwert wird; vielleicht liesse sich diesem Uebelstand dadurch abhelfen, dass man den mucinähnlichen Stoff aus dem Harn vor dem Fällen mit Essigsäure durch einen mässig starken Zusatz von neutralem essigsauren Blei entfernt. Dem Cystin beigemengte Harnsäure trennt man durch Lösen des Cystins in Ammoniak von dieser. — Nach Delépine[1]) kann die Ausbeute aus demselben Harn durch Essigsäure sehr verschieden ausfallen. Am Meisten scheidet sich, und zwar von selbst, ab, wenn man den Harn bei gewöhnlicher Temperatur einige Tage stehen lässt oder nur 24—36 Stunden auf einer Temperatur von noch nicht 40° hält, bevor er alkalische Reaction annimmt. Solcher Harn enthält viel Bakterien und Torulaformen. Filtrirt man den Harn vorher sorgfältig, so verzögert sich die Cystinausscheidung oft auf Tage hinaus, fügt man aber zu filtrirtem Harn einen Tropfen Harn, aus welchem sich Cystin abgesetzt hatte, so erfolgt die Cystinabscheidung schon in 24 Stunden. Filtrirt man einen Harn, in welchem die Cystinabscheidung begonnen hat, so wird die weitere Fällung auf mehrere Tage unterbrochen. Wurde Harn auf 60° erwärmt, so setzte er nachher kein Cystin mehr ab. Abdampfen des Harns schien die Ausbeute nicht zu vermehren. Darnach scheint die Cystinabscheidung durch eine Gährung befördert zu werden, welche durch einen durch Papier abfiltrirbaren Organismus (eine Torula) bewirkt wird.

3. Borissow[2]) hat versucht, das Cystin in der Verbindung des Cysteins mit Quecksilberchlorid (B. 8) abzuscheiden, ohne besonderen Erfolg.

Es wurden 500 cc Harn mit 20 cc verdünnter Salzsäure und Zink auf dem Wasserbade behandelt, das Filtrat mit den concentrirten Lösungen von 10 g Sublimat und 10—20 g Natriumacetat vermischt und stehen gelassen. In der vom Quecksilberniederschlag abfiltrirten Flüssigkeit fanden sich noch erhebliche Mengen Cystein vor und um diese zu gewinnen, musste nach der Abscheidung des in Lösung befindlichen Quecksilbers mit Schwefelwasserstoff auf ein kleines Volumen eingedampft und die Fällung mit Sublimat und Acetat wiederholt werden. Der Quecksilberniederschlag war sehr unrein. Er wurde mit Schwefelwasserstoff zerlegt, der Schwefelwasserstoff aus dem Filtrat durch Kohlensäure vertrieben und die Flüssigkeit zur Trockne verdunstet. Nachdem der Rückstand wiederholt mit absolutem Alkohol in der Kälte ausgezogen worden war, wurde er in wenig

---

1) Mester, Ztschr. f. physiol. Ch. **14**. 118. — Ph. Delépine, Proceed. of the roy. Soc. **47**. 198. 1890; Chem. Centralbl. 1890. **1**. 1068.

2) P. Borissow, Ztschr. f. physiol. Ch. **19**. 515. 1894.

Ammoniak gelöst, das Filtrat mit dem 10fachen Vol. 96proc. Alkohol gefällt und der entstandene Niederschlag nochmals dieser Behandlung unterworfen. Die vereinigten Filtrate wurden abgedampft, der Rückstand in sehr wenig Ammoniak gelöst, mit der 10fachen Menge Alkohol vermischt und die Lösung bei gewöhnlicher Temperatur stehen gelassen. Beim Verdunsten des Ammoniak fällt noch sehr unreines Cystin aus und die Ausscheidung des Cystins ist nicht vollständig. Der Niederschlag zeigte auch nur wenig sechsseitige Tafeln, aber viel an einander gereihte Kugeln, aus welchen die gewöhnlichen Formen erhalten wurden durch Lösen des Rückstands in Salzsäure, Verdunsten der Lösung zur Trockne, und Versetzen der wässrigen Lösung des Rückstands mit Natriumacetat.

4. Ein anderes von Borissow[1]) versuchtes Verfahren besteht darin, dass man den möglichst weit eingedampften Harn zweimal mit ammoniakalischem Alkohol auszieht, das Filtrat mit 3—4 Vol. Aether vermischt und den syrupösen Niederschlag in wenig Ammoniak löst. Beim Verdunsten des Ammoniaks scheidet sich das Cystin in undeutlich ausgebildeten Krystallen ab. Es wird aber nicht alles Cystin gewonnen.

Zur Erkennung des Cystins dient auser der Krystallform und den Löslichkeitsverhältnissen desselben eine der unter B. 7 angegebenen Reactionen, die völlig genügen, wenn man sicher ist, dass dem Cystin keine eiweissartigen Körper anhaften. Die Vergleichung des Cystins mit der Harnsäure nach B. 11 dürfte sich in den meisten Fällen als überflüssig erweisen.

5. Kleine Mengen Cystin oder die von Goldmann und Baumann im Harn aufgefundene cystinähnliche Substanz kann man durch Darstellung des Benzoyl-Cystins (B. 5) nachweisen.

Dazu werden 200 cc oder mehr Harn mit 10 cc Benzoylchlorid und mindestens 70 cc 10proc. Natronlauge so lang geschüttelt, bis der Geruch des Benzoylchlorids verschwunden ist; das Filtrat wird mit Schwefelsäure stark angesäuert und mit alkoholhaltigem Aether ausgeschüttelt. Der nach dem Abdestilliren des Aethers bleibende, viel Benzoësäure enthaltende Rückstand wird längere Zeit mit einer Lösung von Bleioxyd in Natron- oder Kalilauge gekocht. Entsteht dabei ein schwarzer Niederschlag, so zeigt dies die Gegenwart der gesuchten Substanz an. Es lassen sich so noch 10 mg Cystin in 100 cc Harn leicht erkennen.

6. Eine starke Linksdrehung des Harns kann nicht unbedingt als Beweis für die Gegenwart von Cystin aufgefasst werden, auch dann nicht, wenn die Drehung im alkalisch gemachten Harn schwächer ist, als im sauren, wie dies nach B. 4 erwartet werden kann und bei Cystinurie, nach Stadthagen[2]), auch geschieht.

7. Die gepaarten Mercaptursäuren lassen sich nach Baumann[3]) in der Art nachweisen, dass man den frischen Harn mit Bleizucker ausfällt, das Filtrat mit Schwefelwasserstoff entbleit, die Flüssigkeit, nach Entfernung des Schwefelwasserstoffs, mit starker Natronlauge und einigen Tropfen Fehling'scher Lösung 10 Min. lang kocht und hierauf mit Salzsäure ansäuert. Waren Mercaptursäuren vorhanden, so fällt die Kupferverbindung des entsprechenden Mercaptans als gelber grobflockiger Niederschlag aus. — Mercaptursäuren enthaltender Harn dreht in frischem Zustand stark links.

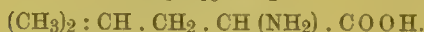
---

1) Borissow, a. a. O. 518.
2) Stadthagen, Virchow's Archiv **100**. 418. 1885.
3) Baumann, Ztschr. f. physiol. Ch. **8**. 194.

III. Leucin.



$C_6H_{13}NO_2$.



$(CH_3)_2 : CH . CH_2 . CH (NH_2) . COOH$.

Syn.: *α* Amidocapronsäure, *α* Amidoisobutylessigsäure.

A. *Vorkommen.* Pouchet[1]) giebt an, Leucin, neben Tyrosin, aber in sehr kleiner Menge, in normalem Harn angetroffen zu haben. Unter pathologischen Verhältnissen tritt es unter denselben Umständen auf, wie das Tyrosin. (Vgl. diesen § IV. A.)

Auch in blos eiweisshaltigem Harn hat man es gefunden, wobei zweifelhaft bleibt, ob es nicht erst nach der Entleerung des Harns aus dem Eiweiss durch Fäulniss entstanden ist.

B. *Eigenschaften.* 1. In reinem Zustand bildet das Leucin sehr zarte Plättchen, die in Drusen angeordnet oder übereinander geschichtet sind (Taf. 1, Fig. 5, die drei Gruppen links oben). In minder reiner Form bildet es Kugeln von schwach strahliger Beschaffenheit, oder Kugeln mit gewimperten Rändern (links unten), oder endlich, wenn es sehr unrein ist, Knollen, an denen sich keine krystallinische Structur wahrnehmen lässt und die höchstens entweder einen hellen Saum und ein dunkles Centrum, oder einen dunklen Rand und eine helle Mitte zeigen.

2. Das reine Leucin benetzt sich schwer mit Wasser, löst sich ziemlich schwer in kaltem Wasser, leichter in warmem. Auch in Alkohol ist es löslich, aber viel schwerer als in Wasser. In Säuren und Laugen löst es sich dagegen leicht. Die dem unreinen Leucin beigemengten Substanzen erhöhen seine Löslichkeit erheblich.

Vom optisch activen Leucin löst sich nach E. Schulze 1 Thl. bei Zimmertemperatur in ungefähr 40 Thlen. Wasser, vom optisch inactiven 1 Thl. in ungefähr 100 Thlen. Wasser. — Durch Sättigen seiner Lösung mit Ammonsulphat wird es theilweise gefällt (Neumeister[2]).

3. Das durch Zersetzen von Eiweisskörpern mittelst Säuren erhaltene und das natürlich vorkommende Leucin sind optisch activ, das beim Erhitzen von Eiweiss mit Barymhydrat entstehende aber ist nach E. Schulze optisch inactiv.

In wässriger Lösung dreht das Leucin nach Lewkowitsch links, in saurer oder alkalischer Lösung dagegen rechts. Für das in Salzsäure gelöste Leucin bestimmte Mauthner bei 6,44 proc. Lösung $[\alpha]_D = 17.54^0$, E. Schulze bei 5 proc. Lösung $= 17.3^0$. In einer 5,64 proc. Lösung in Kalilauge unbestimmter Dichte betrug nach Mauthner $[\alpha]_D = 6.65^0$, in einer 2,37 proc. Lösung in 4 proc. Natronlauge nach Landolt[3]) $[\alpha]_D^{20} = 8.05^0$.

---

[1]) A. G. Pouchet, Contributions à la conn. des mat. extractives de l'urine. Thèse. Paris 1880. 10 u. 38.

[2]) E. Schulze, Ztschr. f. physiol. Ch. **9**. 253. 1885. — Neumeister, Ztschr. f. Biol. **26**. 346. 1890.

[3]) J. Lewkowitsch, Ber. d. chem. Gesellsch. **17**. 1439. 1884. — J. Mauthner, Ztschr. f. physiol. Ch. **7**. 222. 1882/83. — E. Schulze, Ztschr. f. physiol. Ch. **9**. 100. 1885. — Landolt, Berichte d. chem. Gesellsch. **17**. 2838.

4. Das reine Leucin sublimirt bei schwachem Erhitzen (170°), ohne vorher zu schmelzen, zu wollig flockigen, weissen Massen unter Verbreitung eines eigenthümlichen Geruchs (Amylamin). Im geschlossenen Röhrchen schmilzt es nach Cohn[1]) bei 275—276°.

5. Es verbindet sich mit Basen und Säuren zu Salzen.

Das Kupfersalz $(C_6H_{12}NO_2)_2Cu$ bildet blassblaue, kleine, in Wasser ausserordentlich schwer lösliche Schuppen (1 Theil in 1460 Theilen kochendem Wasser, Hofmeister); das Kupfersalz aus unreinem Leucin ist weit löslicher. — Mit wenig Kupfersulphat färbt sich Leucinlösung blau, mit wenig Eisenchlorid roth; die Färbungen sind aber nicht besonders stark; eine mit Natronlauge versetzte Leucinlösung hält eine dem Leucin entsprechende Menge Kupferhydrat in Lösung. — Quecksilberoxydsalze geben mit Leucinlösungen erst auf Zusatz von (wenig) kohlensaurem Natron einen weissen Niederschlag. — Das Platinsalz, nach v. Lippmann[2]) $(C_6H_{13}NO_2)_2H_2PtCl_6$, fällt auf Zusatz von Platinchlorid zur concentrirten salzsauren Lösung als gelber krystallinischer Niederschlag aus. — Phosphorwolframsäure fällt bei Gegenwart überschüssiger Salzsäure das Leucin nicht.

6. Beim Erwärmen von Leucin mit salpetersaurem Quecksilberoxydul scheidet sich metallisches Quecksilber aus (Hofmeister). — Kupferhydrat in alkalischer Lösung wird durch Leucin nicht reducirt.

7. Mit salpetriger Säure entwickelt es in der Kälte wie in der Wärme seinen gesammten Stickstoff gasförmig. — Beim Erhitzen mit concentrirter Schwefelsäure (Kjeldahl'sche Stickstoffbestimmung) tritt der gesammte Stickstoff als Ammoniak auf.

8. Wird reines Leucin auf dem Platinblech mit Salpetersäure vorsichtig abgedampft, so bleibt ein ungefärbter, fast nicht zu sehender Rückstand. Bringt man zu diesem Rückstand einige Tropfen Natronlauge und erwärmt, so löst sich das so behandelte Leucin je nach seiner Reinheit zu einer wasserhellen oder mehr oder weniger gefärbten Flüssigkeit. Wird diese vorsichtig auf dem Platinblech über der Lampe concentrirt, so zieht sich dieselbe in kurzer Zeit zu einem ölartigen, das Platinblech nicht benetzenden, sondern adhaesionslos darauf herumrollenden Tropfen zusammen. Die Erscheinung ist selbst für noch nicht ganz reines Leucin sehr charakteristisch (Scherer).

9. Auf Zusatz einer Spur festen Chinons und eines Tropfens Sodalösung zu einer kalten wässrigen Leucinlösung tritt nach Wurster[3]) eine starke Violettfärbung ein; die Reaction wird auch von anderen Amidosäuren und von Eiweisskörpern erhalten.

10. Mit Furfurol giebt das Leucin nicht, wie das Tyrosin, eine Farbenreaction (dieser § IV. B. 8).

11. Mit Sulphomolybdänsäure (Fröhde'sches Reagens) sowie mit Goldchlorid und Ameisensäure (Reagens von Axenfeld) färbt sich Leucin nach Pickering[4]) blau, wie verschiedene andere Substanzen auch.

---

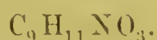
1) R. Cohn, Ztschr. f. physiol. Ch. **20**. 203.
2) F. Hofmeister, Ann. d. Chem. **189**. 16. — E. O. v. Lippmann, Berichte d. chem. Gesellsch. **17**. 2837.
3) C. Wurster, Centralbl. f. Physiol. **2**. 590. 1888.
4) J. W. Pickering, Journ. of Physiology **14**. 373 u. 376.

12. Bei der Fäulniss verwandelt sich das Leucin in baldriansaures Ammon.

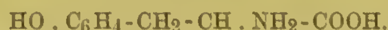
C. *Nachweis.* Für den Nachweis des Leucins wird es wie das Tyrosin aus dem Harn dargestellt (dieser § IV. C); in den Sedimenten ist es nicht zu suchen; auch ist nur frischer Harn in Arbeit zu nehmen. Vom Tyrosin lässt es sich durch Krystallisiren aus Wasser trennen; es krystallisirt von beiden Körpern derjenige zuerst aus, durch welchen die Lösung nach seiner Löslichkeit und Menge zuerst gesättigt wird. Durch Umkrystallisiren aus heissem ammoniakalischen Alkohol gelingt es nicht schwer, das Leucin so rein zu gewinnen, dass es für die Anstellung der Proben tauglich ist.

Die knolligen Formen, in welchen sich das unreine Leucin ausscheidet, sind nicht absolut beweisend für seine Gegenwart, geben aber einen beachtenswerthen Fingerzeig. Erkannt wird das reine Leucin durch die Art, wie es sublimirt, die Scherer'sche Probe (B. 8) und seine Krystallform; die übrigen Eigenschaften können den Nachweis ergänzen.

IV. Tyrosin.



$$C_9H_{11}NO_3.$$



$$HO.C_6H_4\text{-}CH_2\text{-}CH.NH_2\text{-}COOH.$$

Syn.: Para-Oxyphenyl-α-Amidopropionsäure.

A. *Vorkommen.* Nach Pouchet soll neben Leucin auch Tyrosin in kleinen Mengen im normalen Harn vorkommen, nach Blendermann dagegen nicht. Es findet sich bei acuter gelber Leberatrophie, bei acuter Phosphorvergiftung, schwerem Typhus und schweren Pocken (Murchison, Frerichs und Staedeler, Valentiner, Schultzen und Riess, Ossikowszky, Fränkel, Blendermann, Badt); nach Pouchet[1]) tritt es in grösserer Menge auf bei Krankheiten der Leber, der Gallenwege und bei einer ziemlichen Anzahl von Darmaffectionen.

Verabreichtes Tyrosin kommt nach vielfachen Erfahrungen im Harn nicht wieder zum Vorschein; aber nach der Verfütterung von tyrosinschwefelsaurem Kali an ein Kaninchen fand Schotten 13% des Tyrosins im Harn wieder. — Im Harn eines Kaninchens, welches wiederholt Tyrosin erhalten hatte, fand Blendermann[2]) einen Abkömmling desselben, das Hydantoin der Hydroparacumarsäure $\frac{HO.C_6H_4 - C_2H_3.NH}{CO.NH} > CO$. — Bei Leuten mit Alkaptonurie vermehrt das Tyrosin die Homogentisinsäure.

---

1) H. Blendermann, Ztschr. f. physiol. Ch. 6. 261. 1882. — Pouchet, Contrib. à la conn. des mat. extract. de l'urine. Thèse. Paris 1880. 28.

2) C. Schotten, Ztschr. f. physiol. Ch. 7. 32. 1882/83. — H. Blendermann, a. a. O. 251.

B. *Eigenschaften.* 1. Das Tyrosin krystallisirt aus wässriger Lösung in Doppelbüscheln ausserordentlich zarter Nadeln, die nie, wie das Leucin, zu anscheinend homogenen Kugeln zusammenfliessen (Taf. 1, Fig. 5, die grosse Druse rechts unten und die kleine in der Mitte); aus ammoniakalischem Alkohol scheidet es sich (als Ammonsalz, Baumann) in Büscheln deutlicher Prismen aus (die Druse rechts oben).

2. Das optisch active Tyrosin löst sich in 1900—2000 Theilen Wasser von 20° (Staedeler, Schulze[1]), in 150 Theilen heissem Wasser, sehr schwer in reinem Alkohol, nicht in Aether, leicht in Säuren, in Alkalihydraten und kohlensauren Alkalien; das in Salzsäure gelöste Tyrosin wird durch essigsaures Natron gefällt. Ammoniak- oder salzsäurehaltiger Alkohol löst das Tyrosin leichter als reiner, namentlich in der Wärme.

Das künstlich dargestellte Tyrosin löst sich in 2450 Theilen Wasser von 20° (Erlenmeyer und Lipp), das optisch inactive in 3200—3400 Theilen Wasser von 17,5—20° (E. Schulze. — Beim Sättigen seiner Lösung mit Ammonsulphat wird es gefällt (Neumeister[2]).

3. Bei 290° sintert das (künstliche) Tyrosin zusammen und zersetzt sich zwischen 290 und 295° unter lebhafter Gasentwicklung und Rücklassung einer Flüssigkeit (Erlenmeyer u. Lipp); den Schmelzpunkt aus Eiweiss dargestellten Tyrosins fand Cohn[3]) bei 295°.

4. Das natürlich vorkommende und das mittelst Säuren aus Eiweisssubstanzen dargestellte Tyrosin drehen links.

Mauthner bestimmte für eine Lösung von 4,51 g Tyrosin in 100 cc 21proc. Salzsäure $[\alpha]_D = -7,98°$, Landolt für eine Lösung von 3,9 g in ebensolcher Salzsäure $= -8,05°$, E. Schulze[4]) für eine Lösung von 5 g in gleichfalls 21proc. Salzsäure $= -8,48°$. Die spec. Drehung ist jedoch abhängig von der Concentration der zur Lösung verwendeten Salzsäure; bei einer 5proc. Lösung in nur 4proc. Salzsäure fand E. Schulze $[\alpha]_D = -15,6°$. — Für eine Lösung in 11,6proc. Kalilauge betrug nach Mauthner bei 5,8 g in 100 cc $[\alpha]_D = -9,01°$, bei 11,51 g in 100 cc $= -8,86°$.

Aus den bleichen Schösslingen ausgewachsener Rüben gewann v. Lippmann[5]) ein rechtsdrehendes Tyrosin; bei 1,5 g in 100 Salzsäure von 25% $[\alpha]_D = 6,85°$.

Das durch Erhitzen von Eiweiss mit Baryumhydrat dargestellte Tyrosin ist nach E. Schulze[6]) optisch inactiv.

5. Vom Tyrosin lassen sich leicht Verbindungen mit Basen und Säuren darstellen.

Aus Ammoniak krystallisirt das Tyrosin in Büscheln deutlicher Prismen als Ammonverbindung, aus welcher sich das Ammoniak durch fixe Alkalien austreiben lässt. — Das Kupfersalz, $(C_9H_{10}NO_3)_2Cu$ entsteht bei Kochen des

---

1) Staedeler, Ann. d. Ch. u. Pharm. **116**. 57. 1860. — E. Schulze, Ztschr. f. physiol. Ch. **9**. 98. 1884.

2) E. Erlenmeyer u. A. Lipp, Ann. d. Ch. **219**. 173. 1883. — Schulze, a. a. O. 109. — Neumeister, Ztschr. f. Biol. **26**. 346. 1890.

3) R. Cohn, Ztschr. f. physiol. Ch. **22**. 166. 1896.

4) Mauthner, Monatshefte **3**. 343. 1882. — Landolt, Ber. d. chem. Gesellsch. **17**. 2838. — Schulze, a. a. O. 98.

5) E. O. v. Lippmann, Berichte d. chem. Gesellsch. **17**. 2839.

6) Schulze, a. a. O. 109.

Tyrosins mit Kupferhydrat, ist schwer löslich und krystallisirt in schön blauen Prismen, zerfällt aber beim Kochen mit Wasser leicht in Tyrosin und schwarzes Kupferoxyd. — Das Silbersalz $C_9H_{10}NO_3Ag$ fällt aus einer heissen schwach ammoniakalischen Tyrosinlösung nach Zusatz von salpetersaurem Silber beim Erkalten in mikroskopischen Prismen. — In reinem Zustande wird es weder durch Quecksilberoxydsalze noch durch die Bleiacetate gefällt. — Das Chlorid $C_9H_{11}NO_3$, HCl, 2 H_2O krystallisirt aus der salzsauren Lösung von Tyrosin über Schwefelsäure in stark glänzenden, meist büschelförmigen Prismen; durch rauchende Salzsäure wird es aus seinen Lösungen gefällt; Wasser zersetzt das Salz zu seinen Bestandtheilen. — Durch Phosphorwolframsäure und Salzsäure wird das Tyrosin nicht gefällt. — Bei mässigem Erhitzen von Tyrosin mit wenig concentrirter Schwefelsäure entsteht Tyrosinschwefelsäure $C_9H_{10}NO_3 . SO_3H$, deren Barytsalz löslich ist.

6. Versetzt man eine heiss bereitete wässrige Lösung von Tyrosin mit salpetersaurem Quecksilberoxyd und mit salpetrigsaurem Kali, so färbt sich die Flüssigkeit, so lange sie noch heiss ist, schön dunkelroth und giebt einen massenhaften rothen Niederschlag (R. Hoffmann[1]).

Eine ähnliche Färbung erhält man nach Wurster, wenn man der wässrigen kochenden Tyrosinlösung 1procentige Essigsäure und dann bei fortgesetztem Kochen, unter Vermeidung eines Ueberschusses, tropfenweise 1procentige Lösung von salpetrigsaurem Natron zusetzt.

7. Fügt man nach Wurster[2]) zu einer heiss bereiteten Lösung von Tyrosin in Wasser etwas trockenes Chinon, so färbt sich die Flüssigkeit schnell tief rubinroth; die Färbung hält sich etwa 24 Stunden, geht dann aber in Braun über; auf Zusatz von Natriumcarbonat geht sie in rothviolett oder blauviolett über. Zusatz von festem Kochsalz erleichtert den Eintritt der Reaction.

Eiweiss, Harn, Speichel, Käse und andere Amidosäuren als Tyrosin geben diese Färbung, und auch Ammoniak eine ähnliche; bei längerem Kochen von Chinon für sich oder mit Phenol färbt sich die Lösung blass gelbrosa. In Eisessig gelöstes Tyrosin giebt auf Zusatz von Chinon die rothe Färbung gleichfalls, in verdünnter Essigsäure gelöstes wird durch Chinon nur gelb, beim Neutralisiren mit kohlensaurem Natron aber schön roth; ein Ueberschuss von kohlensaurem Natron erzeugt eine gelbbraune Färbung, die einer schön rothen oder blauvioletten Platz macht.

Die Reaction ist nur dann beweisend, wenn sie das Tyrosin als solches oder in Gemischen schon beim Erwärmen, nicht erst nach längerem Kochen giebt.

8. Löst man ein Körnchen Tyrosin in 1 cc Wasser, setzt 1 Tropfen 0,5 proc. Furfurolwasser zu und lässt unter die Mischung 1 cc concentrirte Schwefelsäure fliessen, so färbt sich die Flüssigkeit nach v. Udránszky[3]) schwach rosenroth. Die Flüssigkeit soll sich nicht über 50° erwärmen.

9. Erwärmt man Tyrosin mit einigen Tropfen concentrirter Schwefelsäure gelinde, sättigt die entstandene schwach röthliche Lösung von Tyrosinschwefelsäure in der Wärme und unter Zusatz von Wasser

---

1) R. Hoffmann, Ann. d. Chem. u. Pharm. **87**. 123. 1853.
2) C. Wurster, Centralbl. f. Physiol. **1**. 194, 1887; **2**. 590. 1888.
3) L. v. Udránszky, Zeitschr. f. physiol. Ch. **12**. 355. 1888.

mit kohlensaurem Baryt und filtrirt, so erhält man ein farbloses neutrales Filtrat, welches auf Zusatz von säurefreiem Eisenchlorid (in der Kälte) schön violett wird, ganz ähnlich wie salicylsaures Eisen (Piria[1]).

10. Wird Tyrosin vorsichtig mit Salpetersäure abgedampft, so entsteht neben Oxalsäure gelbes salpetersaures Nitrotyrosin; durch Kali oder Ammoniak wird dieser Rückstand tief rothbraun gefärbt. — Verdampft man Tyrosin auf dem Platinblech mit Salpetersäure von 1,2 Dichte, so färbt sich schon bei der ersten Einwirkung der warmen Salpetersäure das schnell sich lösende Tyrosin lebhaft pomeranzengelb. Es hinterlässt beim Abdampfen einen glänzenden, durchsichtigen tief gelb gefärbten Rückstand; bringt man auf diesen einige Tropfen Natronlauge, so färbt sich die Flüssigkeit alsbald tief rothgelb und hinterlässt beim Verdunsten einen intensiv schwarzbraunen Rückstand (Scherer).

11. Lässt man auf eine salzsaure Lösung von Tyrosin einige Zeit salpetrige Säure einwirken, so tritt nach Landsteiner[2]) Gelbfärbung ein; die mit Ammoniak übersättigte Lösung färbt sich auf Zusatz von α- oder β-Naphtol blauroth, auf Zusatz von Resorcin roth. Die Reaction beruht auf der Bildung einer Diazoverbindung. Sie wird ausser durch Eiweisskörper (Obermayer) auch durch aromatische Oxysäuren (Salicylsäure, Paraoxybenzoësäure) erhalten.

12. Wie andere Amidosäuren, Eiweisskörper etc. färbt sich nach Pickering[3]) Tyrosin mit dem Axenfeld'schen Reagens (Goldchlorid und Ameisensäure), sowie durch das Fröhde'sche Reagens (Sulphomolybdänsäure) blau.

13. In Fehling'scher Lösung löst sich reines Tyrosin nicht mit grüner Farbe, wie Neumeister[4]) angiebt, sondern mit blauer.

14. In der Kälte entwickelt das Tyrosin mit salpetriger Säure seinen gesammten Stickstoff, in der Wärme dagegen nach Kreusler bedeutend mehr. — Mit Bromlauge liefert das Tyrosin keinen Stickstoff (Hüfner); beim Erhitzen mit concentrirter Schwefelsäure giebt es allen Stickstoff als Ammoniak ab.

C. *Nachweis.* Das Tyrosin kann sich im Harn als Sediment vorfinden, worüber die mikroskopische Untersuchung Anhalt, aber durchaus keine Gewissheit giebt. Sind in demselben die Drusen des Tyrosins sichtbar, so wird das Sediment abfiltrirt, mit Wasser gewaschen, in Ammoniak unter Zusatz von etwas kohlensaurem Ammon in der Wärme gelöst und das Filtrat zur Krystallisation verdunstet.

Das im Harn gelöst enthaltene Tyrosin lässt sich nicht direct nachweisen; die Hoffmann'sche Probe (B. 6.), welche dazu verwandt werden könnte, ist nicht geeignet, weil auch normaler Harn diese Millon'sche Reaction giebt (§ 24. I. 1. C. S. 239). Auch wenn man aus normalem Harn den grössten Theil

---

1) R. Piria, Ann. d. Ch. u. Pharm. **82**. 252. 1852.
2) K. Landsteiner, Centralbl. f. Physiol. **8**. 773. 1894; **9**. 434.
3) J. W. Pickering, Journ. of Physiol. **14**. 372 u. 376. 1893.
4) R. Neumeister, Ztschr. f. Biol. **27**. 372. 1890.

der Oxysäuren mit Bleiessig entfernt und den Rest aus dem angesäuerten Filtrat vollständig durch Aether, giebt der Harn nach Blendermann[1]) noch die Millon'sche Reaction. Ebenso wenig ist die Chinonprobe (B. 7) zum direkten Nachweis des Tyrosins geeignet. Man muss das Tyrosin aus dem Harn darstellen. Dazu dient das von Frerichs und Staedeler angegebene Verfahren.

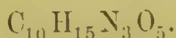
a. Der Harn wird mit basisch essigsaurem Blei ausgefällt, das Filtrat mit Schwefelwasserstoff vom überschüssigen Blei befreit, die abfiltrirte Flüssigkeit möglichst weit eingedampft und der Rückstand zur Krystallisation stehen gelassen. Auf diese Weise lassen sich nach Blendermann[1]) noch 0,5 g Tyrosin in 0,5 und 1 l Harn nachweisen, 0,2 g aber nicht mehr.

b. Man kann auch den Abdampfungsrückstand zur Entfernung des die Krystallisation erschwerenden Harnstoffs sogleich mit kleinen Mengen starken Alkohols ausziehen, darauf das ungelöst gebliebene mit schwächerem (ammoniakalischem) Alkohol auskochen, die Lösung auf ein kleines Volumen verdunsten und der Krystallisation überlassen. — Schotten[2]) schüttelte den angesäuerten Harn vorher zur Beseitigung der Oxysäuren mit alkoholhaltigem Aether, was den Vortheil darbietet, dass zugleich viel Harnstoff entfernt wird. Nach dem Verjagen des in Lösung gegangenen Alkohols und Aethers wird der extrahirte Harn mit Bleiessig gefällt und wie angegeben verfahren.

Sind neben den Drusen des Tyrosins Leucinkugeln unter dem Mikroskop sichtbar oder ist das Tyrosin in Leucinkugeln eingebettet, so lassen sich beide Körper durch wenig Alkohol trennen, in welchem sich das Leucin leichter löst als das Tyrosin. Ist das Tyrosin stark gefärbt, so löst man es in heissem, reichlich mit Ammoniak versetztem Alkohol, wobei die färbenden Substanzen in Lösung bleiben. Beim Verdunsten des Ammoniaks an der Luft oder beim Concentriren der Lösung im Wasserbad krystallisirt das Tyrosin rein aus (Huppert).

Mit dem isolirten Tyrosin stellt man dann wenigstens die Hoffmann'sche und die Piria'sche Probe (B. 6 und 9) an, wozu sehr kleine Mengen ausreichen.

V. Fleischsäure.



$C_{10}H_{15}N_3O_5$.

A. *Vorkommen.* Die nach Siegfried und nach Balke mit dem Antipepton identische Fleischsäure ist von Siegfried im Fleischsaft entdeckt, von ihm im Harn aufgefunden und von Rockwood[3]) aus Harn dargestellt worden. Wie im Fleischsaft kommt sie auch im Harn wesentlich als Phosphorfleischsäure vor.

Sie findet sich nach Balke und Ide[4]) auch in anderen Geweben (Leber, Niere); in der Milch kommt nach Balke die ihr ähnliche Orylsäure vor.

---

1) Blendermann, Ztschr. f. physiol. Ch. 6. 260. 1882.
2) Schotten, a. a. O. 33.
3) P. Balke, Ztschr. f. physiol. Ch. 22. 248. 1896. — M. Siegfried, Berichte der k. sächs. Gesellsch. d. Wissensch., Mathemat. physik. Kl. 1893. 485; Berichte d. chem. Gesellsch. 27. 2762. 1894; Du Bois' Archiv 18. 401. 1894. — C. W. Rockwood, Du Bois' Arch. 19. 1. 1895.
4) Balke u. Ide, Ztschr. f. physiol. Ch. 21. 385. 1896.

B. *Eigenschaften.* 1. Die Fleischsäure wird aus ihrem Baryumsalz (4. d.) durch Fällen des Baryts mit Schwefelsäure, Eindampfen des Filtrats im Wasserbad bis zum dünnen Syrup und Fällen mit Alkohol dargestellt. Aus den so erhaltenen hellgrauen, zusammenfliessenden Flocken wird die Säure durch sehr häufiges Lösen in Wasser und Fällen mit Alkohol als fast weisses Pulver analysenrein erhalten.

2. Die Säure ist leicht löslich und äusserst hygroskopisch; beim Eindampfen ihrer Lösung wird sie theilweise unlöslich. Durch Sättigen ihrer wässrigen Lösung mit Ammonsulphat wird sie nicht gefällt. Sie löst sich schwer in Alkohol, leichter in der Wärme als in der Kälte; aus der heiss gesättigten alkoholischen Lösung scheidet sie sich beim Erkalten in undeutlichen mikroskopischen Krystallen aus. Sie löst sich auch in Phenol und in Eisessig, aber, namentlich in höherer Temperatur, unter Zersetzung. In Aether, Benzol, Petroläther, Chloroform ist sie völlig unlöslich. Sie reagirt auf Lackmus sauer, schmeckt aber nicht sauer, sondern angenehm nach Fleischextract.

3. Sie ist einbasisch. Ihre Salze sind, mit Ausnahme des Silber- und des Ferrisalzes, aus der Säure und dem Metallhydrat oder -carbonat dargestellt worden.

Die Alkalisalze reagiren alkalisch; die alkalische Reaction tritt bei Zusatz von Alkalihydrat zu einer Lösung der Säuren schon ein, bevor die für die Bildung des normalen Salzes erforderliche Menge Basis zugesetzt ist. — Das Ammonsalz giebt beim Eindampfen seiner Lösung auf dem Wasserbad Ammoniak ab, aber schwer alles. — Das Baryumsalz, $(C_{10}H_{14}N_3O_5)_2Ba, 2H_2O$, ist leicht löslich und reagirt alkalisch. Durch Alkohol wird es aus seiner Lösung krystallinisch gefällt. Kohlensäure scheidet aus dem Salz den Baryt nicht ab. — Das Zinksalz, $(C_{10}H_{14}N_3O_5)_2Zn$, erstarrt im trocknen Vacuum krystallinisch. — Das Kupfersalz, $(C_{10}H_{14}N_3O_5)_2Cu$, ist in wässriger Lösung, auch in verdünntester, ebenso nach dem Fällen mit Alkohol, grün. — Das Silbersalz, $C_{10}H_{13}N_3O_5Ag_2, 2H_2O$, wird aus der concentrirten Lösung eines fleischsauren Salzes durch Zusatz von Silbernitrat erhalten. Schwer löslich in kaltem Wasser, leichter in heissem; aus der heiss gesättigten Lösung scheidet es sich undeutlich krystallinisch ab. Es lässt sich nur unter erheblichem Verlust umkrystallisiren. Sein Krystallwasser verliert es schon einige Grade unter 100°. Das mit Alkohol gefällte Silbersalz scheint nach Rockwood kein Krystallwasser zu enthalten. — Das Ferrisalz entsteht aus dem Baryumsalz durch Kochen der Lösung desselben mit Eisenchlorid; es bleibt zum Theil colloid gelöst und scheidet sich erst beim Aussalzen, am Besten mit Kochsalz, ab. In Alkalien ist es, im Gegensatz zum Carniferrin, unlöslich. Das Salz ist basisch; in demselben sind 51,4—54% Eisen gefunden worden. Durch Zersetzen mit Baryumhydrat liefert es wieder das Baryumsalz.

4. a. Die Phosphorfleischsäure ist eine nucleinsäureartige Verbindung der Fleischsäure mit Phosphorsäure, und wird deshalb von Siegfried als Nucleon bezeichnet. Sie löst sich in Wasser und wird aus dieser Lösung durch Alkohol gefällt.

b. Ihr Baryumsalz ist in Wasser löslich, reagirt alkalisch und wird durch Kohlensäure nicht zersetzt. Beim Kochen mit Baryum-

hydrat giebt es einen Niederschlag von Baryumphosphat. Das Calciumsalz verhält sich wie das Baryumsalz.

c. Das Ferrisalz, Carniferrin fällt als rostbrauner amorpher Niederschlag beim Kochen des Baryum- oder Calciumsalzes mit Eisenchlorid. Umgekehrt kann das Baryumsalz aus dem Ferrisalz durch Behandeln mit einer zur völligen Zersetzung unzureichenden Menge Baryumhydrat dargestellt werden. Das Ferrisalz enthält nach Analysen von Balke[1]) in 100 Theilen 22,46 C, 3,03 H, 5,54 N, 29,19 Fe, 2,04 P; es kommen darnach auf 1 At. P 6 At. N und 8 At. Fe. Es löst sich in Alkalihydrat, auch in Ammoniak, schwieriger in Natriumcarbonat; ferner in Säuren und auch in Eisenchloridlösung. Die Lösungen sind je nach der Concentration hell- bis dunkelbraun. Die Lösungen in Alkali halten sich lange unzersetzt, wenn sie kein überschüssiges Alkalihydrat enthalten.

Verdünnte alkalische Lösungen des Carniferrins geben mit Schwefelammon erst nach langer Zeit, selbst erst nach Stunden einen Niederschlag von Schwefeleisen; die Flüssigkeit färbt sich erst grün, dann schwarz. Die Zersetzung erfolgt schneller bei Gegenwart eines grossen Ueberschusses von Schwefelammon sowie beim Erhitzen. — Essigsäure und Ferrocyankalium geben gleichfalls erst nach langer Zeit oder beim Kochen Berlinerblau; Verwendung einer Mineralsäure statt der Essigsäure bei der Reaction beschleunigt die Bildung des blauen Niederschlags. — Nach Zusatz von Salzsäure zu einer Carniferrinlösung geht die braune Farbe derselben erst beim Erhitzen in die gelbe der verdünnten Eisenchloridlösung über.

d. Das Carniferrin entwickelt nach Siegfried[2]) mit Mineralsäuren schon unterhalb 100° Kohlensäure, giebt bei der Behandlung mit Mineralsäure (verdünnter Salpetersäure) oder starkem Ammoniak ein Fehling'sche Flüssigkeit reducirendes, Furfurol und Osazon bildendes, aber von Traubenzucker verschiedenes Kohlenhydrat (Glykuronsäure?); die Menge Kohlensäure, welche das Carniferrin auf 1 Mol. Fleischsäure entwickelt, beträgt nach Krüger[3]) wahrscheinlich 1 Mol. Das Carniferrin liefert beim Behandeln mit Baryumhydrat unter Bildung eines Niederschlags von Eisenoxyd und phosphorsaurem Baryt fleischsaures Baryum, welches in Lösung bleibt; daneben entsteht noch Bernsteinsäure und Milchsäure (Fleischmilchsäure aus dem Präparat aus Fleischsaft, Gährungsmilchsäure aus dem Carniferrin aus Milch). Die Zersetzung mit

[1]) Balke, Ztschr. f. physiol. Ch. 21. 363 u. 374.
[2]) Siegfried, Ber. d. chem. Gesellsch. 28. 515. 1895; Ztschr. f. physiol. Ch. 21. 360.
[3]) Th. R. Krüger, Ztschr. f. physiol. Ch. 22. 95. 1896.

Baryumhydrat nimmt man am besten bei 50° vor; in der Kälte ist die Zerlegung unvollständig, beim Kochen entwickelt sich Ammoniak.

5. a. Mit Salzsäure liefert die Fleischsäure kein Chlorhydrat, sondern nach Art einer ungesättigten Verbindung ein Additionsprodukt von der Zusammensetzung $C_{10}H_{15}N_3O_5$, HCl. Die Verbindung reagirt sauer.

Aus der Lösung der Fleischsäure in kalter Salzsäure fällt Alkohol einen Körper, welcher zwar Chlor enthält, aber so fest gebunden, dass es nicht unmittelbar durch Silbernitrat nachweisbar ist. Die wässrige Lösung des mit Alkohol chlorfrei gewaschenen Niederschlags scheidet mit salpetersaurem Silber erst beim Erhitzen mit Salpetersäure Chlorsilber ab. Leichter als durch Säuren wird das Chlor durch Alkalien abgespalten; doch lässt sich das Additionsprodukt durch kohlensaures Natron neutralisiren, ohne Salzsäure abzugeben. In dieser Hinsicht verhält sich also die Fleischsäure wie nach Paal[1]) die Peptone überhaupt.

b. Behandelt man ein Metallsalz der Fleischsäure mit Schwefelwasserstoff, so entsteht eine schwefelhaltige Säure; Arnhold fand in einer solchen 10% Schwefel. — Wird Fleischsäure an der Luft mit Schwefelammon eingedampft, so vereinigt sich die dabei entstandene Thioschwefelsäure mit der Fleischsäure. Dieses Verhalten ist aber nach älteren Erfahrungen[2]) nichts der Säure Eigenthümliches.

6. Die Fleischsäure giebt einen Niederschlag mit Nucleinsäure, wie die Eiweisskörper. Sie wird gefällt durch Tannin, unvollständig durch Phosphorwolframsäure und Schwefelsäure; Pikrinsäure trübt die Lösung, die Trübung verschwindet beim Erwärmen und tritt beim Erkalten wieder auf. Trichloressigsäure giebt in Gegenwart von Kochsalz einen geringen harzigen Niederschlag. Nicht gefällt wird sie durch Ferrocyankalium und Essigsäure, Sublimat, Bleiessig.

7. Bei Anstellung der Biuretreaction wird die Flüssigkeit roth. Die Millon'sche Reaction wird mit der Fleischsäure nicht erhalten.

Die aus Harn dargestellte Fleischsäure wurde bei der Biuretreaction, nach Rockwood, nicht roth, sondern blau oder blaugrün.

8. Durch Permanganat wird die Fleischsäure zu Oxyfleischsäure $C_{30}H_{41}N_9O_{15}$ oxydirt (Balke[3]).

9. Beim Erhitzen der Fleischsäure mit Salzsäure auf 130° entstehen Ammoniak, Lysatin, $C_6H_{13}N_3O_2$, Lysin $C_6H_{14}N_2O_2$ und noch zwei Amidosäuren, aber kein Tyrosin.

C. *Darstellung* und *Nachweis*. Rockwood hat 200 Ltr. Harn auf 6 Ltr. eingedampft und das Filtrat in der Kälte mit Baryumhydrat

---

[1]) C. Paal, Berichte d. chem. Gesellsch. **27**. 1835. 1894.

[2]) Huppert, Ann. d. Ch. u. Pharm. **126**. 252. 1863. — J. Specht, das. 373. — Werther, Journ. f. prakt. Ch. **90**. 128. — A. Fröhde, Ann. d. Ch. u. Pharm. **130**. 127.

[3]) P. Balke, Ztschr. f. physiol. Ch. **22**. 255.

in geringem Ueberschuss versetzt. Der Niederschlag wurde abfiltrirt und mehrmals mit kaltem Wasser gewaschen. In diesem Filtrat entstand auf Zusatz von Eisenchlorid schon in der Kälte ein im Ueberschuss des Fällungsmittels löslicher Niederschlag, der ein Gemeng mehrerer sehr hygroskopischer, stickstoff- und schwefelhaltiger Säuren enthielt. Die von diesem Niederschlag abfiltrirte Flüssigkeit gab dann beim Kochen mit Eisenchlorid einen flockigen Niederschlag von phosphorfleischsaurem und von basisch fleischsaurem Eisenoxyd. Das colloide fleischsaure Eisen könnte, wenn nöthig, durch Zusatz von Kochsalz niedergeschlagen werden.

In dem Niederschlag wären dann die beiden Säuren aufzusuchen. Von den beiden Eisensalzen löst sich das phosphorfleischsaure in Alkali (Ammoniak), das andere nicht. Lässt die alkalische Lösung die Gegenwart von Eisen mittelst Ferrocyankalium und Essigsäure und namentlich mittelst Schwefelammon erst beim Erhitzen erkennen, so verhält sie sich wie eine Lösung von Carniferrin; auf den Ausfall der Reaction mit Ferrocyanwasserstoff allein ist nichts zu geben, da Ferrocyankalium und Essigsäure für sich beim Kochen einen blauen Niederschlag liefern. Es könnte noch die Phosphorsäure nachgewiesen werden, wozu man die Lösung mit Baryumhydrat zu erwärmen hätte: die Phosphorsäure findet sich als Baryumsalz neben Eisenoxyd im Niederschlag. Rockwood hat dazu und zugleich zum Behuf einer quantitativen Bestimmung des Phosphors den (über Schwefelsäure) getrockneten Niederschlag mit Natriumhydrat und Salpeter geschmolzen; es fanden sich (mittelst der Molybdänmethode) nur 0,22 % Phosphor. Bei Verwendung reiner Substanz wäre aus einem solchen Befund auf die Gegenwart von nur wenig Phosphorfleischsäure zu schliessen.

Zum Nachweis der Fleischsäure müsste der ursprüngliche Niederschlag nach B. 4. d. mit Baryumhydrat behandelt und der Baryt wieder mit Schwefelsäure ausgefällt werden. Mit der so erhaltenen Lösung werden dann die in B. 6. u. 7. angeführten Reactionen (mit Weglassung der Nucleinsäure) angestellt. Charakteristisch sind ferner die grüne Farbe des Kupfersalzes, welches sich leicht durch Kochen der Säure mit Kupferhydrat oder Kupfercarbonat erhalten lässt, und die Art, wie die Salzsäure von der Fleischsäure gebunden ist. Diese Chlorverbindung erhält man durch Fällen einer Lösung der Fleischsäure in concentrirter Salzsäure mit Alkohol und Auswaschen mit Alkohol; die Lösung des Niederschlags darf mit Silbernitrat erst dann einen Niederschlag geben, nachdem sie mit Natriumhydrat (chlorfreiem, aus Natrium dargestelltem) gekocht und wieder mit Salpetersäure angesäuert ist. Da auch beim Verdunsten von Schwefelammon für sich Thioschwefelsäure entsteht, so ist die Bildung dieser Säure beim Verdunsten

von Schwefelammon mit der fraglichen Substanz (B. II. 5) für den Nachweis der Fleischsäure nicht zu brauchen. Reicht das Material noch aus, so kann zur völligen Sicherung des Resultats noch das Silbersalz dargestellt und analysirt werden.

Die Lösung der Säure wird auf dem Wasserbad concentrirt, mit Ammoniak nahezu neutralisirt, in verdünntem Alkohol gelöst und die Lösung mit Silbernitrat ausgefällt. Der Niederschlag kann Chlorsilber enthalten, welches dann aus chlorhaltiger Säure herrühren würde; bei Gegenwart von Chlorsilber löst sich der Niederschlag nicht vollständig in Salpetersäure. Das chlorfreie Salz kann sofort zur Analyse verwendet werden, das chlorhaltige Salz wird mit Wasser ausgekocht, das Filtrat mit Alkohol gefällt und der Niederschlag, wie die von vornherein chlorfreie Verbindung mit Alkohol und mit Aether gewaschen und über Schwefelsäure getrocknet. Das reine (noch krystallwasserhaltige) Salz enthält 42,60 % Ag; bei 100° verliert es 7,10 % Krystallwasser und enthält dann 45,86 % Ag.

Ein Verfahren zur quantitativen Bestimmung der Fleischsäure in Gewebssäften ist von Balke und Ide[1]) angegeben worden.

§ 31. Der gesammte Stickstoff.

Ein gesunder erwachsener Mensch entleert bei gewöhnlicher Lebensweise und gemischter Kost in 24 Stunden mit den im Harn enthaltenen Stoffen 10—16 g Stickstoff, so dass der Harn, bei 1,5 Ltr. Tagesmenge, 0,67—1,07 % Stickstoff enthält; oder, wenn der Stickstoff als Harnstoff berechnet wird (14 Stickstoff = 30 Harnstoff) enthält der Harn rund 1,4—2,3 % Harnstoff und in der Tagesmenge 21,5—34 g Harnstoff.

Die im Harn auftretenden stickstoffhaltigen Substanzen sind wesentlich Zerfallsprodukte des Eiweisses und ihre Menge ist deshalb abhängig vom Körpergewicht (Alter), der mit der Nahrung aufgenommenen Eiweissmenge und von Umständen, welche Eiweiss ausser der Norm zum Zerfall bringen, wie die Consumptionskrankheiten (Fieber, Krebskachexie, Zuckerharnruhr) und die Zufuhr von Protoplasmagiften. Für kurze Zeitabschnitte macht sich die Zeit der Nahrungsaufnahme geltend. Die Muskelarbeit ist ohne Einfluss auf die Stickstoffausscheidung.

Kinder scheiden auf gleiches Körpergewicht erheblich mehr Stickstoff aus, als Erwachsene. Im Hunger kann die Stickstoffausscheidung auf sehr geringe Grössen sinken; Fr. Müller fand bei abstinirenden fieberfreien Kranken als niedrigste Zahl für die Tagesmenge mehrmals 3 g; bei ausserordentlich reichlicher Eiweisszufuhr hat J. Ranke die 24 st. Stickstoffmenge auf 50 g steigen sehen. — Die Abhängigkeit der Stickstoffausfuhr vom Fieber ist zuerst von mir nachgewiesen worden; im Fieber kann sie auch ohne Nahrungsaufnahme Höhen erreichen wie nach reichlicher Zufuhr von Eiweiss. Den Einfluss der Krebskachexie auf die Stickstoffausscheidung haben Fr. Müller sowie Klemperer dargethan. — Erschwerung der Sauerstoffaufnahme führt nach Fränkel sowie Reale und Boeri zu einer Steigerung der Stickstoffausgabe und ebenso verhalten sich

---

[1]) Balke und Ide, Ztschr. f. physiol. Ch. 21. 386. 1896.

nach Formanek[1]) heisse Bäder. Den in grosser Zahl bekannten Protoplasmagiften (Phosphor, Arsen, Antimon, Kupferoxyd, Benzoësäure, Salicylsäure u. a. Säuren, Antifebrin, Chloroformwasser, Chloralhydrat u. a.) reiht sich nach vielfachen Beobachtungen die Schilddrüse (bei innerlicher Verabreichung) an.

Nach den Untersuchungen von Pflüger u. Bohland entfallen von dem Stickstoff des Harns im Mittel 86,6 % (84,0—90,3) auf den Harnstoff, nach Bohland[2]), nach der Analyse von Harnen meist Fiebernder 84,6 % (81,9—86,6), der Rest auf Harnsäure und Xanthinbasen, Kreatinin, Hippursäure, Rhodanwasserstoff, Indol, Eiweiss, Ammoniak u. a.

Wie sich der übrige Stickstoff auf die anderen Stoffe vertheilt, darüber ist eine Anzahl von Untersuchungen angestellt worden. Bohland erhöht die 15,54 % Stickstoff, welche in anderer Form als Harnstoff im Harn enthalten waren, unter Zuziehung eines Verlustes an Ammoniak bei den Analysen auf 16,6 %; von diesen kommen 6,5 % auf durch die Phosphorwolframsäure fällbare Körper (die Xanthinbasen, Harnsäure, Kreatinin, Eiweisskörper, ein Theil der Harnfarbstoffe), 5,7 % auf das Ammoniak und 4,4 % auf andere Bestandtheile.

Ueber die Vertheilung des Stickstoffes auf die einzelnen Harnbestandtheile liegen noch folgende Beobachtungen vor.

Nach 11 Bestimmungen, welche Bödtker[3]) mit den Harnen von 4 gesunden erwachsenen Männern ausgeführt hat, kamen von 100 Gesammtstickstoff auf

$\overset{+}{U}$ 90,16 (86,1—92,9), $\bar{U}$ 1,53 (1,25—1,86), NH_3 4,20 (2,56—4,98), Rest 4,18 (0,63—8,93).

($\overset{+}{U}$ = Harnstoff, $\bar{U}$ = Harnsäure.) Sjöqvist[4]) fand bei zwei Gesunden 91 % des gesammten Stickstoffes im Harnstoff, 4,2 % im Ammoniak. Weitere einschlägige Zahlen von Gumlich u. A. weiter unten.

Die Untersuchung der einzelnen Harne von 9 meist mit Knochenleiden behafteten 4—11 ½ Jahr alten Kindern ergaben Bödtker für

$\overset{+}{U}$ 88,41 (83,1—94,3), $\bar{U}$ 1,57 (1,03—2,38), NH_3 4,89 (3,25—7,20), Rest (0,15—9,39).

Es besteht darnach in dieser Hinsicht zwischen Erwachsenen und Kindern kein wesentlicher Unterschied.

An Neugeborenen hat Sjöqvist[5]) vor (1), während (2) und nach (3) der Niereninfarctperiode Untersuchungen angestellt und gefunden für

(1)	$\overset{+}{U}$ 74,5,	$\bar{U}$ 7,9,	NH_3 7,8,	Rest 9,8
(2)	„ 76,1,	„ 8,5,	„ 8,1,	„ 7,3
(3)	„ 72,7,	„ 3,0,	„ 9,6,	„ 12,7

---

1) Fr. Müller, Verhandl. des VIII. Congresses f. innere Med. 396. 1889; Ztschr. f. klin. Med. **16**. 496. — Huppert, Archiv d. Heilkunde **7**. 1. 1866; **10**. 503. 1869; Huppert u. A. Riesell, daselbst **10**. 329. — Fr. Müller, a. a. O. — G. Klemperer, Berliner klin. Wochenschr. 40. 1889. 869. — A. Fränkel, Virchow's Archiv **67**. 273. 1876. — E. Reale u. G. Boeri, Wiener med. Wochenschr. 1895. 1064. — E. Formanek, Monatshefte f. Ch. **13**. 476. 1892.

2) E. Pflüger u. K. Bohland, Pflüger's Archiv **38**. 575. 1886. — Bohland, daselbst **43**. 30. 1888.

3) Eyvind Bödtker, Beitrag zur Kenntniss des Eiweissabbaus, Bergen 1896.

4) J. Sjöqvist, Nordisk med. Arkiv 36. 1892; Jahresb. f. Thierch. 1892. 206.

5) Sjöqvist, Nordisk med. Arkiv 1894: Jahresb. f. Thierch. 1893. 245.

Die Menge des auf die Harnsäure kommenden Stickstoffes ist also vor und während der Infarctperiode ausserordentlich gross und das Verhältniss zwischen Harnstoff und Harnsäure ist ähnlich dem bei der Leukämie. An absoluten Mengen wurde gefunden in 100 cc (1) 0,56 g $\overset{+}{U}$ und 0,082 g $\overset{-}{U}$, (2) 1,49 $\overset{+}{U}$ und 0,232 U, (3) 0,263 $\overset{+}{U}$ und 0,015 $\overset{-}{U}$.

Ueber den Einfluss der Nahrung ermittelte Gumlich[1]) bei

gemischter Kost	für $\overset{+}{U}$ 85,1 (82,9—87,3),	NH_3 4,59 (3,8—5,8),	Rest 10,36	(8.0—11.9)
animalisch.	„ „ 86,8 (79,2—88,2),	„ 4,84 (3,5—5,6),	„ 8,39	(7,6—17,2)
vegetabil.	„ „ 80,5 (76,9—83,4),	„ 4,29 (3,4—8,6),	„ 15,75	(10,5—17,7)

Schultze[2]) ermittelte bei

gemischter Kost	für $\overset{+}{U}$ 85,4,	$\overset{-}{U}$ 1,48,	Rest 13,07
Fleischkost	„ „ 88,4,	„ 1,34,	„ 12,26

Bleibtreu[2]) bei

Fleischkost	für $\overset{+}{U}$ 90,5,	$\overset{-}{U}$ 1,11,	Rest 8,44
vegetabilischer Kost	„ „ 84,6,	„ 2,41,	„ 12,96

Camerer[2]) bei ($\overset{+}{U}$ mit Bromlauge)

gemischter Kost	für $\overset{+}{U}$ 88,3,	$\overset{-}{U}$ 1,50,	Xanthinbasen 0,27
annimalisch.	„ „ 93,3,	„ 1,29,	„ 0,10
vegetabil.	„ „ 86,4,	„ 1,84,	„ 0,49

Starke Muskelthätigkeit vermindert nach Chibret u. Huguet[3]) die Harnstoffmenge. Vier Velocipedisten, welche einen Weg von 397 Kmtr. zurücklegten, 20—23 Kmtr. in der Stunde, entleerten darnach im Liter Harn 14,6—19,1 g Stickstoff, von welchem nur 58,3—76,3 % auf den Harnstoff kamen.

Pathologische Zustände, Leberleiden. In zwei Fällen von acuter Phosphorvergiftung mit tödtlichem Ausgang fand Sjöqvist[4]) für

$\overset{+}{U}$ 55,1 und 60,6, NH_3 27,6 und 14,2, Rest 17,3 und 26,2

in einem dritten Falle mit hochgradiger Entartung der Leber aber für $\overset{+}{U}$ 85. In zwei Fällen von Phosphorvergiftung mit Ausgang in Genesung war der Harnstoff gegen die Norm um höchstens 6,5 % vermindert, das Ammoniak um 7 % vermehrt. In vier Fällen von atrophischer Cirrhose fand sich eine deutliche Verminderung des Harnstoffs, das Ammoniak war in einem Fall vermindert, in den übrigen (bis zum Doppelten) vermehrt, die übrigen stickstoffhaltigen Bestandtheile auf das 4—5 fache vermehrt. Bei hypertrophischer Cirrhose (2 Fälle) und bei biliärer Hepatitis war der Befund derselbe, wie bei der atrophischen Cirrhose, aber nicht so ausgesprochen, aber in einem Fall von hochgradiger Cirrhose wurden vom Gesammtstickstoff 84,6 % im Harnstoff gefunden. Catarrhalischer Icterus (1 Fall) bot gegen die Norm keine Veränderung dar. Bei Syphilis (2 Fälle) und Carcinom (5 Fälle) der Leber war meist Verminderung des Harnstoffs und Vermehrung des Ammoniaks nachweisbar, aber nicht in hohem Grade. Auch Badt fand in manchen Fällen von acuter Phosphorvergiftung die Harnstoffbildung sehr beeinträchtigt, in anderen wieder nicht. Pott bestimmte in einem Falle von

Lebercarcinom für $\overset{+}{U}$ 77,4, $\overset{-}{U}$ 2,83, Gumlich in je einem Fall von

Carcinom	„ „ 82,6,	NH_3 5,3,	Rest 12,1
Cirrhose	„ „ 73,8,	„ 10,7,	„ 15,5

1) G. Gumlich, Ztschr. f. physiol. Ch. **17**. 10. 1892.

2) E. Schultze, Pflüger's Archiv **45**. 401. 1889. — Bleibtreu, daselbst 402. — W. Camerer, Ztschr. f. Biologie **28**. 72. 1891.

3) Chibret u. Huguet, Comptes rendus **115**. 288. 1892.

4) Sjöqvist, a. a. O. 1892.

Während gesunde Hunde nach Hahn u. Nencki auf 1 Thl. Ammoniak 40—70 Thle. Harnstoff ausscheiden, liefern sie nach Ausschaltung der Leber aus dem Blutkreislauf durch Anlegen einer Eck'schen Pfortaderfistel und Unterbindung der Leberarterie auf 1 Thl. Ammoniak 13—33, und bei Eintritt von Vergiftungserscheinungen nur 7,6—16,1 Thl. Harnstoff. Nach Verödung der Leber durch Injection von Schwefelsäure in den Gallengang fand Lieblein bei relativem Wohlbefinden der Thiere das Verhältniss vom Harnstoff zum Ammoniak und zum gesammten Stickstoff nicht verändert, aber in der Zeit der terminalen Symptome (zunehmendes Coma) war in einzelnen Fällen das Ammoniak vermehrt und der Harnstoff vermindert. Die starke Steigerung der Stickstoffausscheidung, welche nach Krawkow[1]) bei Hunden nach Unterbindung des Gallengangs eintritt, betrifft wesentlich den Harnstoff und die Harnsäure.

Bei Fieber fand Gumlich in 16 Bestimmungen

für $\overset{+}{U}$ 80,6 (75,5—85,3), H_3N 6,7 (2,9—12,1), Rest 13,2 (8,9—20,0),

bei chronischer Nephritis (12 Bestimmungen)

für $\overset{+}{U}$ 77,5 (72,3—88,9), H_3N 6,6 (3,4—13,3), Rest 15,9 (7,5—23,7),

bei acuter Nephritis (10 Bestimmungen)

für $\overset{+}{U}$ 83,8 (76,5—88,4), H_3N 4,5 (3,3—7,0), Rest 11,7 (5,4—19,0),

bei Schrumpfniere (10 Bestimmungen)

für $\overset{+}{U}$ 85,2 (82,2—87,7), H_3N 3,9 (2,5—6,7), Rest 10,9 (5,6—14,1),

bei Urämie vor dem Anfall: nach dem Anfall:

für $\overset{+}{U}$ 87,9, H_3N 6,7, Rest 5,4; für $\overset{+}{U}$ 76,5, H_3N 4,5, Rest 19,0

bei Diabetes (9 Bestimmungen)

für $\overset{+}{U}$ 82,6 (74,7—86,9), H_3N 9,5 (5,7—15,9), Rest 7,9 (4,2—11,3),

Bödtker bei einem diabetischen Kind in 18 Bestimmungen

für $\overset{+}{U}$ 90,3 (86,4—93,7), $\overset{-}{U}$ 0,89 (0,23—1,33), H_3N 4,7 (3,4—6,9), Rest 4,43 (0,34—8,22),

bei Gicht Bödtker in 17 Fällen und 36 Analysen

für $\overset{+}{U}$ 89,6 (82,1—95,7), U 1,74 (0,35—3,98).

Toepfer[2]) hat bei Gesunden und in verschiedenen Krankheiten Harnstoff, Harnsäure und Ammoniak bestimmt. Während der dann bleibende Stickstoffrest bei Gesunden und verschiedenen Kranken 0,08—5,1 % vom Gesammtstickstoff betrug, machte er bei (7) Carcinomen der verschiedensten Art 17,6, bei (2) Epitheliomen 16,3 % aus. Der Gesammtstickstoff der angeblich 24 stündigen Harnmenge betrug bei den Carcinomatösen 5,4 g, bei den mit Epitheliom Behafteten 8,5 g, bei den (2) Gesunden aber auch nur 8,2 g.

Beim Pferde bestimmte Gumlich den im Harnstoff enthaltenen Stickstoff zu 84,5 %, bei der Kuh zu 83,4 % (Ammoniak enthielten diese Harne nicht), Meissl u. Strohmer beim Schwein mittelst Bromlauge zu 84,3 %, Bleibtreu (nach Pflüger) beim Hund unter Fleischkost zu 89,0 und 95,9, bei gemischter Kost zu 85,5, Rubner[3]) mittelst Bromlauge im Hungerharn des Hundes 73,3 %, bei Fütterung mit Fleisch 80,1 %, bei Fütterung mit ausgelaugtem Fleisch 87,7 %.

---

1) Badt, Centralbl. f. klin. Med. **13**. 251. 1892. — R. Pott, Pflüger's Archiv **46**. 509. — M. Hahn u. M. Nencki, Archiv f. exper. Pathol. **32**. 192. 1893. — V. Lieblein, daselbst **33**. 328. 1894. — N. P. Krawkow, Centralbl. f. d. med. Wiss. 1892. 932.

2) G. Toepfer, Wiener klin. Wochenschr. 3. 1892. 49.

3) E. Meissl u. F. Strohmer, Monatsh. f. Ch. **4**. 810. 1883. — Bleibtreu, Pflüger's Archiv **44**. 534. — Rubner, Ztschr. f. Biol. **21**. 331.

Die erhaltenen Werthe sind nicht alle unter einander vergleichbar. Bleibtreu, Schultze, Pott, sowie Hahn und Nencki bestimmten den Harnstoff nach dem Verfahren von Pflüger, Bödtker, Sjöquist, Lieblein nach dem Verfahren von Mörner und Sjöquist; nach beiden Methoden wird der wirkliche Harnstoff ermittelt. Gumlich schied aus dem Harn die durch Phosphorsäure fällbare Substanz einschliesslich des Ammoniaks ab; der in Lösung bleibende Stickstoff ist nicht von Gumlich, sondern von mir, der Kürze wegen, als $\overset{+}{U}$-Stickstoff bezeichnet worden; seine Menge ist grösser, als die nach Pflüger oder nach Mörner und Sjöquist bestimmte. Die durch Phosphorwolframsäure fällbare Substanz nach Abzug des Stickstoffs stellt den Rest vor. Bromlauge zersetzt nicht allein Harnstoff zu Stickstoff, entwickelt aber dafür aus anderen Harnbestandtheilen Stickstoff, beide Stickstoffmengen stehen aber in keinem bestimmten Verhältniss. In der Untersuchung von Chibret und Huguet ist der Harnstoff nach einem von Huguet angegebenen Verfahren titrirt worden.

Aus den Bestimmungen bei Leberleiden ergiebt sich, dass Harnstoff und Ammoniak in umgekehrtem Verhältniss ausgeschieden werden. Diese Thatsache steht offenbar im Zusammenhang mit der Harnstoff bildenden Funktion der Leber; in welchem Umfang dabei der von Badt hervorgehobene Umstand, dass der Körper mit sauren Zerfallsproducten der Lebersubstanz überschwemmt wird, auf die Vermehrung der Ammoniakausscheidung und die Verminderung der Harnstoffbildung ist, lässt sich nicht entscheiden. Aber auch in den Beobachtungen von Bödtker tritt dieselbe Beziehung hervor. zwar nicht in allen einzelnen Fällen, aber im Durchschnitt. Bei den 11 Untersuchungen des Harns Gesunder kommen auf 3 Fälle mit weniger als 90 % $\overset{+}{U}$ Stickstoff 7,11 NH_3 Stickstoff, auf 4 Fälle zwischen 90 und 91 % $\overset{+}{U}$-N 3,32 NH_3-N und auf 4 Fälle mit über 91 % $\overset{+}{U}$-N 2,64 NH_3-N. Dieselbe Regelmässigkeit zeigt sich auch beim Harn der Kinder und in dem Fall von Diabetes.

§ 32. Harnstoff.



CH_4N_2O.



$H_2N . CO . HN_2$.

Syn. Amidoameisensäure-Amid, Carbaminsäure-Amid, Carbamid.

A. *Eigenschaften.* 1. Der im Harn vorkommende Harnstoff ist der gewöhnliche.

Man hat es wahrscheinlich zu machen gesucht, dass im normalen Harn neben dem gewöhnlichen Harnstoff sehr kleine Mengen Methylharnstoff vorkommen; ein sicherer Beweis für diese Annahme liegt jedoch noch nicht vor. — Aethylharnstoff, $C_2H_5 . HNCONH_2$, tritt nach Schmiedeberg in geringer Menge im Harn (des Hundes) nach Verabreichung von kohlensaurem Aethylamin auf. Nach mehrtägiger Verabreichung von citronensaurem Aethylamin konnte jedoch Jaffé [1]) im Harn des dazu benutzten Hundes Aethylharnstoff als Aethylphenylsemicarbazid nicht nachweisen.

2. Der Harnstoff krystallisirt in farblosen, matten, gestreiften, vierseitigen Säulen, deren Enden durch eine oder zwei schiefe Endflächen geschlossen sind. Die Krystalle gehören dem rhombischen System an. Kleine Krystalle erscheinen unter dem Mikroskop als vierseitige glatte Prismen, deren Formen nichts Charakteristisches darbieten.

---

[1]) M. Jaffé, Zeitschr. f. physiol. Ch. **22**. 537. 1897.

3. Der Harnstoff besitzt einen bitterlich kühlenden, dem des Salpeters ähnlichen Geschmack. Seine Krystalle enthalten kein Wasser, sind luftbeständig und lösen sich mit Leichtigkeit in Wasser, in Alkohol und in Amylalkohol auf. Die Lösungen sind neutral. In reinem Aether und in Essigäther ist er unlöslich, er löst sich dagegen in wasser- oder alkoholhaltigem Aether. In Chloroform löst er sich nicht. Der Schmelzpunkt des Harnstoffs liegt bei 130—132° (Lubavin). Im Vacuum sublimirt er nach Bourgeois[1]) sehr leicht bei 120—130° in Prismen oder vier- und achtseitigen Täfelchen.

4. Als basischer Körper verbindet sich der Harnstoff mit Säuren, sowohl organischen (Essigsäure, Bernsteinsäure, Weinsäure, Citronensäure, Gallussäure), wie unorganischen, und liefert mit ihnen krystallisirende Salze, von welchen namentlich zwei, das salpetersaure und das oxalsaure, wegen ihrer Schwerlöslichkeit in analytischer Hinsicht wichtig sind; unlösliche Salze sind vom Harnstoff keine bekannt.

a. Salpetersaurer Harnstoff, CH_4N_2O, HNO_3. Vermischt man eine concentrirte Lösung von Harnstoff mit reiner, namentlich von salpetriger Säure freier concentrirter Salpetersäure im Ueberschuss, so scheidet sich die Verbindung bald in weissen glänzenden Plättchen oder Schuppen aus, die einfach sind, oft aber auch in übereinander geschobenen Tafeln erscheinen. Schütteln der Mischung oder Abkühlen derselben beschleunigt die Krystallbildung.

Bei kleinen Mengen von Harnstoff lässt man die Verbindung sich unter dem Mikroskop bilden, indem man zu der Harnstofflösung unter dem Deckgläschen von der Seite einen Tropfen Salpetersäure hinzutreten lässt. Ist die Harnstofflösung concentrirt genug, so beginnt die Krystallausscheidung sofort an der Stelle, an welcher die Lösung und die Säure in einander fliessen. Die Grundform des salpetersauren Harnstoffs ist eine rhombische Tafel, deren spitzer Winkel 82° beträgt, und die durch Abstumpfung der stumpfen Winkel zur sechsseitigen Tafel wird. Meist scheidet sich der Harnstoff in solchen sechsseitigen Täfelchen aus, deren Ränder sich schuppenartig decken. (Taf. I. obere Hälfte der Figur 2.)

Das luftbeständige Salz löst sich in Wasser leicht, schwierig in salpetersäurehaltigem Wasser, am Schwierigsten in salpetersäurehaltigem Weingeist, leicht dagegen nach Drechsel[2]) in kaltem Aceton. Es reagirt stark sauer. Auf Platinblech schnell erhitzt verpufft es; bei 140° zerfällt es in Kohlensäure, Stickstoffoxydul und salpetersaures Ammon.

b. Oxalsaurer Harnstoff, $(CH_4N_2O)_2, C_2H_2O_4$. (Regnault, Werther, F. Lossen). Die Verbindung bildet sich beim Mischen einer concentrirten Oxalsäurelösung mit einer concentrirten Harnstofflösung und scheidet sich in rhombischen Tafeln aus, welche leicht zu kurzen dicken rhombischen Prismen anwachsen. In dieser prismatischen Form erhält man sie am Häufigsten bei der Anfertigung mikroskopischer Präparate. (Tafel I. untere Hälfte der Fig. 2.) Die Krystalle lösen sich leichter in Wasser als in Oxalsäurelösung, nach Brücke[3]) schwer in Aether, Alkohol und in Amylalkohol. In der Wärme zersetzt sich das Salz leicht; beim Eindampfen seiner wässrigen Lösung verwandelt sich der oxalsaure Harnstoff in saures oxalsaures Ammon, $C_2H(NH_4)O_4 + 2H_2O$; beim Erhitzen für sich zerfällt der oxalsaure Harnstoff in kohlensaures Ammon und Cyanursäure.

Auch ein saures oxalsaures Salz des Harnstoffs, $CH_4N_2O, C_2H_2O_4$, ist dargestellt worden.

1) Lubavin, Ber. d. chem. Gesellsch. 3. 304. — Bourgeois, Bull. de la Soc. chim. [3] 7. 45. 1892.

2) E. Drechsel, Journ. f. prakt. Chemie [2] 22. 484.

3) Werther, Journ. f. prakt. Ch. 35. 484. — F. Lossen, Ann. d. Chemie 201. 374. — E. Brücke, Monatshefte f. Ch. 3. 195.

c. Phosphorsaurer Harnstoff, CH_4N_2O, H_3PO_4 krystallisirt nach Jul. Lehmann aus einer Harnstoff und Phosphorsäure nach gleichen Molekülen enthaltenden Lösung in grossen glänzenden, dem rhombischen System angehörigen Krystallen. Sie lösen sich sehr leicht in Wasser, zerfliessen aber an der Luft nicht. Die Krystalle sind von Lehmann und von Pecile[1]) auch aus dem eingedampften Harn mit Kleie gefütterter Schweine erhalten worden.

d. Phosphorwolframsaurer Harnstoff. Nach Mörner und Sjöquist giebt eine 5proc. Harnstofflösung mit dem gleichen oder doppelten Volumen Phosphorwolframsäurelösung (10 proc. Phosphorwolframsäurelösung mit 0,1 Vol. 25 proc. Salzsäure) sofort einen krystallinischen Niederschlag, der allmählich sehr reichlich wird. Aus 3—4 proc. Lösung entsteht der Niederschlag sehr langsam, bisweilen erst in 1—2 Tagen. Zusatz von Salzsäure und niedere Temperatur befördern seine Bildung; beim Gefrierpunkt setzt sogar eine 2 proc. Harnstofflösung noch Krystalle ab. In Uebereinstimmung hiermit giebt Gumlich an, dass bei gewöhnlicher Temperatur eine 1,7 proc. Harnstofflösung durch Phosphorwolframsäure (und Salzsäure) nicht gefällt wird, und nach Schöndorff bleibt der Niederschlag dann auch mit 1—3 proc. Harnstofflösungen aus. — Die Verbindung krystallisirt nach Mörner und Sjöquist[2]) gewöhnlich in Nadeln, zuweilen in Tafeln. Die Krystalle lösen sich in Wasser, besonders aber in Alkohol; sie können umkrystallisirt werden. Die Lösung färbt sich allmählich im Sonnenlicht. Durch Baryt lässt sich der Harnstoff aus der Verbindung wieder gewinnen.

e. Die Verbindungen des Harnstoffs mit der Harnsäure sind bei dieser (§ 33. B. 3 c. d.) beschrieben.

5) Der Harnstoff vereinigt sich auch mit Salzen zu meist krystallisirenden Verbindungen, so mit Chlornatrium, Chlorammonium, den Chloriden schwerer Metalle (Quecksilber, Gold, Zink, Kupfer etc.); die Verbindung des Harnstoffs mit Palladiumchlorür, $2\,CH_4N_2O$, $PdCl_2$, ist ausgezeichnet durch ihre ausserordentliche Schwerlöslichkeit. Aehnliche Verbindungen geht der Harnstoff auch mit salpetersauren Salzen ein (Natron, Silber, Quecksilberoxyd). Auch mit Metalloxyden (Silberoxyd, Quecksilberoxyd) vereinigt sich derselbe. Salpetersaures Silber fällt den Harnstoff nicht. Von diesen Verbindungen sind die mit dem Quecksilber von Bedeutung für die Analyse.

Man erhält nach Liebig[3]) deren drei, wenn man Harnstofflösung mit salpetersaurem Quecksilberoxyd versetzt; sie bestehen aus einer Verbindung von $2\,CH_4N_2O$, $Hg(NO_3)_2$ mit 1, mit 2 und 3 HgO. Die Verbindung $2\,CH_4N_2O$, $Hg(NO_3)_2$, 3 HgO fällt als schwerer weisser, krystallinischer Niederschlag beim Mischen sehr verdünnter warmer Harnstofflösung mit salpetersaurem Quecksilberoxyd aus. Auf der Bildung dieses Salzes beruht die quantitative Bestimmung des Harnstoffs nach Liebig.

Diese Verbindungen sind in Salpetersäure löslich; da, wie aus der Zusammensetzung der Niederschläge ersichtlich ist, beim Entstehen derselben Salpetersäure frei wird, so fällt auch bei Zusatz im Uebrigen genügender Mengen von salpetersaurem Quecksilberoxyd zu einer Harnstofflösung nicht aller Harnstoff aus; vollständig wird dagegen die Fällung des Harnstoffs, wenn man die frei gewordene Salpetersäure neutralisirt. Auf diese Art lässt sich nach v. Schröder noch 1 mg Harnstoff in 1 l Lösung nachweisen. Schöndorff[4]) hatte beim Fällen von Harnstoff mit salpetersaurem Quecksilberoxyd Verluste bis zu 8%.

---

1) J. Lehmann, Chem. Centralbl. 1866. 1119. — D. Pecile, Ann. d. Ch. 183. 142.

2) K. A. H. Mörner und J. Sjöquist, Skandin. Archiv 2. 466. 1891. — Gumlich, Ztschr. f. physiol. Ch. 17. 12. 1892. — R. Schöndorff, Pflüger's Archiv 54. 426. 1893.

3) Liebig, Ann. d. Ch. u. Pharm. 85. 294.

4) W. v. Schröder, Archiv f. exper. Pathol. 15. 369. 1882. — R. Schöndorff, Pflüger's Archiv 62. 6. 1895.

Sie lösen sich auch in Kochsalzlösung oder der Lösung anderer Chloride; eine chloridhaltige neutrale Harnstofflösung giebt daher mit salpetersaurem Quecksilberoxyd erst dann einen Niederschlag, wenn man so viel Quecksilbernitrat hinzugefügt hat, dass sich alles Chlorid mit dem Quecksilbernitrat zu Quecksilberchlorid umgesetzt hat. (Auf diese Reaction gründete sich die von Liebig angegebene Methode zur quantitativen Bestimmung des Chlors im Harn.) Dem entsprechend giebt auch Quecksilberchlorid mit neutraler Harnstofflösung keinen Niederschlag, ein solcher entsteht aber, wenn die Harnstofflösung (mit Kali) alkalisch gemacht wird; bei Gegenwart von doppelt kohlensaurem Natron giebt Sublimat nach Liebig[1]) selbst mit Spuren Harnstoff noch einen weissen Niederschlag einer Verbindung von Harnstoff und Quecksilberoxyd. Beim Auswaschen mit Wasser zersetzen sich die Niederschläge unter Abgabe von Harnstoff und Quecksilber.

Bei gleichzeitiger Gegenwart von Amidosäuren oder Uramidosäuren oder Acetamid wird die Fällung des Harnstoffs entweder in der Weise beeinträchtigt, dass kein dem Harnstoff entsprechend grosser Niederschlag entsteht, oder dass auch die fremden Substanzen in Verbindung gehen.

6. Harnstoff liefert nach Lehmann[2]) selbst in 30 proc. Lösung beim Schütteln mit Benzoylchlorid weder für sich noch mit Natronlauge Benzoylharnstoff.

Damit wird eine ältere Angabe von v. Udránszky und Baumann[3]) erledigt, nach welcher die Ausscheidung von Benzoylharnstoff erst dann aufhören sollte, wenn der Harnstoffgehalt der Lösung auf 2% gesunken war.

7. Der Harnstoff verbindet sich nach Schiff[4]) leicht mit Aldehyden. Von diesen Verbindungen kommen folgende für den Nachweis von Harnstoff in Betracht.

a. Uebergiesst man nach Schiff[5]) in einem Porzellanschälchen ein Harnstoffkryställchen von Stecknadelkopfgrösse mit einem Tropfen fast concentrirter wässriger Furfurollösung und fügt sogleich einen Tropfen Salzsäure von etwa 1,10 zu, so tritt sehr rasch eine von Gelb durch Grün in Blau und Violett übergehende Färbung ein, welche sich dann im Verlauf von wenigen Minuten in ein prachtvolles Purpurviolett umwandelt.

Die Reaction lässt sich auch in der Weise anstellen, dass man eine Lösung von Harnstoff in etwa 3 Theilen concentrirter Furfurollösung mit wenig Tropfen concentrirter Salzsäure versetzt. Die Flüssigkeit erwärmt sich, färbt sich allmählich prachtvoll purpurviolett und erstarrt alsbald zu einer festen braunschwarzen Masse. — In alkoholischen Lösungen tritt dieselbe Erscheinung ein. — Mit sehr verdünnter wässriger Furfurollösung erhält man unter Anwendung concentrirter Schwefelsäure nach v. Udránszky die Reaction nicht. — Aeltere Furfurollösungen färben sich auf Zusatz von concentrirter Salzsäure (4–6 Tropfen Säure zu 2 cc Furfurollösung) in etwa 10 Minuten blassroth. Um einem dadurch möglichen Irrthum zu entgehen, stellt man sich eine solche Mischung von Furfurollösung und Salzsäure her und löst in ihr einen kleinen Harnstoffkrystall auf; es tritt dann nach wenig Minuten eine tiefviolette Färbung auf, welche allmählich missfarben wird; schliesslich setzt sich eine schwarze Substanz ab. — Die violettroth

1) Liebig, a. a. O. 80. 123; 85. 291.
2) V. Lehmann, Ztschr. f. physiol. Ch. 17. 409. 1892.
3) L. v. Udránszky und Baumann, Berichte d. chem. Gesellsch. 21. 2938. 1888.
4) H. Schiff, Ann. d. Ch. u. Pharm. 151. 186. 1869.
5) H. Schiff, Berichte d. chem. Gesellsch. 10. 773. 1877.

gefärbte Flüssigkeit zeigt nach v. Udránszky einen sehr scharf ausgeprägten Absorptionstreifen auf D und nach Krukenberg[1]) einen zweiten unbeständigen auf F.

b. Eine Lösung von Harnstoff in verdünnter Salzsäure giebt nach Goldschmidt[2]) mit überschüssigem Formaldehyd einen weissen körnigen Niederschlag $C_5H_{10}N_4O_3$, für das sich kein Lösungsmittel fand.

Starke Säuren zersetzen die Verbindung, Alkalien sind ohne Einfluss. Sie entsteht auch in Abwesenheit von Säure, ist dann aber schwer rein zu erhalten. Die Fällung scheint eine fast quantitative zu sein.

c. Harnstoff verbindet sich nach Lüdy[3]) leicht mit Ortho-Nitrobenzaldehyd zu Nitrobenzyliden-Diureid $NO_2 . C_6H_4 . CH(NH . CO . NH_2)_2$ beim Verdunsten einer alkoholischen Lösung der beiden Bestandtheile.

Die Verbindung entsteht ebenso leicht, wenn der eine oder der andere Bestandtheil im Ueberschuss zugegen ist. Der Niederschlag, welcher fest an der Schale haftet, wird in gelinder Wärme mit Alkohol so lang gewaschen, bis sich der Alkohol mit salzsaurem Phenylhydrazin nicht mehr roth oder orange färbt, ein Zeichen, dass der überschüssige o-Nitrobenzaldehyd entfernt ist. Das Diureid bildet einen weisslichen krystallinischen Körper vom Schmelzp. 200⁰, der sich wenig in kaltem und warmem Wasser, Alkohol und in Aether löst, sich aber beim Kochen mit 10proc. Schwefelsäure in Harnstoff und o-Nitrobenzaldehyd zerlegt.

8. Mit Phenylhydrazin verbindet sich der Harnstoff in stark essigsaurer Lösung nach Jaffé direct zu Phenylsemicarbazid $H_2N . CO - HN . NH . C_6H_5$, derselben Verbindung, welche E. Fischer aus Phenylhydrazin und Kaliumcyanat, Pinner[4]) aus salzsaurem Phenylhydrazin und Harnstoff bei 150—160^0, Skinner und Ruhemann beim Erhitzen von Urethan und Phenylhydrazin erhielten (vergl. § 30. I. B. 3; S. 269).

Weisse Plättchen, in heissem Wasser, Alkohol, Aceton, Holzgeist leicht löslich, schwer in kaltem Wasser, Aether, Benzol, Ligroin. Schmelzp. 170^0. Rauchende Salzsäure zerlegt die Verbindung in Phenylhydrazin, Kohlensäure und Ammoniak. Sie reducirt Fehling'sche Lösung in gelinder Wärme und liefert in salzsaurer Lösung mit salpetrigsaurem Natron ein in farblosen Plättchen krystallisirendes Nitrosoderivat, welches beim Kochen mit Alkalien in Diazobenzolimid, Kohlensäure und Ammoniak zerfällt und bei der Behandlung mit Zinkstaub nach Jaffé wieder Phenylsemicarbazid liefert. Die Lösung des Phenylsemicarbazids giebt nach Edeleanu[4]) mit Quecksilberchlorid einen violetten, in Säuren theilweise löslichen, aus der sauren Lösung durch Alkalicarbonat fällbaren Farbstoff, der Seide ächt färbt, und mit Kupfersulphat einen blauen Niederschlag von gleichem Verhalten.

Nach Jaffé giebt eine 10proc. Harnstofflösung einen mächtigen Niederschlag der Verbindung, eine 5proc. Harnstofflösung noch reichlich Krystalle, eine 2proc.

---

[1]) L. v. Udránszky, Ztschr. f. physiol. Ch. **12**. 363. 1888. — Krukenberg, Verhandl. der Würzburger physik.-med. Gesellsch. N. F. **18**. 199. 1884.

[2]) C. Goldschmidt, Berichte d. chem. Gesellsch. **29**. 2438. 1896.

[3]) E. Lüdy, Monatsh. f. Ch. **10**. 303. 310. 1890.

[4]) M. Jaffé, Ztschr. f. physiol. Ch. **22**. 532. 1897. — E. Fischer, Ann. d. Ch. **190**. 113. 1878. — Pinner, Ber. d. chem. Gesellsch. **20**. 2358. 1887. — L. Edeleanu, Chem. Centralbl. 1892. **1**. 628.

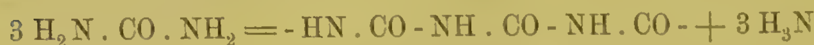
noch einen Niederschlag, und wenn man eine verdünnte (2proc.) Harnstofflösung mit einem Ueberschuss von Phenylhydrazin 1—2 Tage bei kühler Temperatur stehen lässt, ist die Ausbeute noch quantitativ. Nur harnstoffreicher Harn (vom Hund nach Fütterung mit Fleisch oder Leim) lieferte nach 2stündigem Erwärmen (mit 5 cc Phenylhydrazin und 25 cc Essigsäure) auf dem Wasserbade bei langsamem Erkalten gelb gefärbte Krystalle, die sich durch Umkrystallisiren aus Alkohol und aus Wasser farblos erhalten liessen. Aus dem Harn von Hunden, die mit Brod oder mit Milch gefüttert worden waren, sowie aus Menschenharn liess sich die Verbindung nicht gewinnen.

9. Bei anhaltendem Schmelzen wird der Harnstoff unter Abgabe von Ammoniak zu Biuret und Cyanursäure:



$$2\,H_2N\,.\,CO\,.\,NH_2 = H_2N\,.\,CO\,.\,NH\,.\,CO\,.\,NH_2 + H_3N$$

Biuret.



$$3\,H_2N\,.\,CO\,.\,NH_2 = \text{-}HN\,.\,CO\text{-}NH\,.\,CO\text{-}NH\,.\,CO\text{-} + 3\,H_3N$$

Cyanursäure.

Auch beim Behandeln von Harnstoff mit Chlor oder Brom in der Wärme entsteht aus ihm Biuret und zuletzt Cyanursäure, neben Stickstoff und Chlor- oder Bromammon. Ebenso entsteht bei längerem Erwärmen einer Harnstofflösung mit Salzsäure auf dem Wasserbade nach Drechsel eine kleine Menge Biuret, oder wenn Harnstoff mit überschüssigem Palladiumchlorür auf dem Wasserbade eingedampft wird.

Dieselbe oder eine ähnliche Veränderung wie beim Schmelzen scheint der Harnstoff schon bei 100^0, wenn auch in geringerem Maasse zu erfahren, wenigstens nimmt der Harnstoff bei 100^0 fortwährend an Gewicht ab. Es lässt sich also Harnstoff bei 100^0 nicht ohne Zersetzung trocknen (Huppert).

Erhitzt man Harnstoff auf dem Platinblech, so schmilzt er zunächst, wird dann unter Entwicklung von Ammoniak wieder fest und verraucht endlich leicht und vollständig ohne Hinterlassung von Kohle.

10. Entsprechend seiner Entstehung aus cyansaurem Ammon $CN\,.\,O\,.\,NH_4$ kann der Harnstoff wieder in dieses übergeführt werden. Diese Rückverwandlung erleidet der Harnstoff schon beim Erwärmen seiner wässrigen Lösung auf 100^0. Das gebildete Ammoncyanat kann sich weiter in Ammoncarbonat verwandeln.

Walker u. Hambly[1]) haben in dieser Hinsicht Folgendes ermittelt. Die Umwandlung des Harnstoffs zu Ammoncyanat erfolgt beim Erwärmen der wässrigen Lösung auf 100^0 schon in 10 Min., erreicht aber (in decinormaler Lösung) in 1–1½ St. ihr Ende. Die Reaction ist eine Gleichgewichtsreaction; es werden nur 5% des Harnstoffes in Cyanat umgewandelt, wie umgekehrt vom Ammoncyanat nur 95% zu Harnstoff werden, wiewohl man diese Harnstoffmenge nicht vollständig (nur 93%) erhält, da ein Theil des Ammoncyanats in Ammoncarbonat übergeht. Fällt man die entstandene Cyansäure durch salpetersaures Silber aus, so wird das Gleichgewicht zwischen Ammoncyanat und Harnstoff gestört und es entsteht aufs Neue Ammoncyanat; aber auch wenn man auf 1 Mol. Silbernitrat 5 Mol. Harnstoff einwirken lässt, entstehen nur 88% der theoretischen Menge an Cyansäure, weil die geringe Menge des in Lösung befindlichen Silbercyanats die Reaction hindert. Bei Verwendung gleicher Moleküle Silbernitrat und Harnstoff erhält man (in 4 St.) nur die Hälfte des Silbersalzes als Cyanat. — Die Reaction ist eine bimolekulare (Reaction zweiter Ordnung), ihre Geschwindigkeit

---

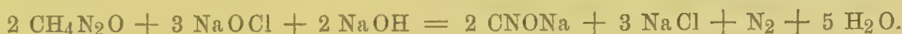
1) James Walker u. Fred J. Hambly, Journ. of the chem. Soc. 67. 746. 1895.

im Anfang grösser als am Ende. In der Wärme verläuft sie schneller, als in der Kälte, die Lage des Gleichgewichts wird aber durch die Temperatur nur wenig beeinflusst. In verdünnter Lösung ist die Geschwindigkeit grösser, als in concentrirter Lösung. Zusatz von Kaliumsulphat vermindert die Geschwindigkeit nur wenig, Ammonsulphat oder Kaliumcyanat beschleunigt die Reaction aber beträchtlich; freies Ammoniak ist ohne Einfluss auf dieselbe.

Auf diese Thatsachen beziehen sich die älteren Beobachtungen über das Verhalten des Harnstoffs in wässriger Lösung. Dass sich Harnstoff in wässriger Lösung bei 100⁰ zersetzt, war schon Wöhler bekannt. Nach Berthelot u. André zersetzt sich der Harnstoff dabei binnen 5 Tagen nicht merklich, auch nicht, nach Leube, bei sehr langem Erwärmen auf 30—40⁰ und nach v. Schröder kann eine wässrige Harnstofflösung bei 60—75⁰ ohne merklichen Verlust eingedampft werden. Aber nach mehrstündigem Erwärmen auf 60⁰ ist nach Leube in der Lösung mit Nessler'schem Reagens Ammoniak nachweisbar; in 1 1/2 St. verliert eine siedende Harnstofflösung nach Berthelot und André 5,6% ihres Stickstoffes (als aus Ammoncyanat entstandenes Ammoncarbonat) und bei 1/2 stündigem Erhitzen einer 1—3 proc. wässrigen Lösung auf 180⁰ ist nach Cazeneuve u. Hugounenq[1]) aller Harnstoff in kohlensaures Ammon verwandelt.

Die Rückbildung von Cyansäure aus Harnstoff beim Eindampfen einer Harnstofflösung mit salpetersaurem Silber ist schon von Liebig u. Wöhler beobachtet worden. Auch bei anderen Reactionen ist die Bildung von Cyansäure aus Harnstoff wahrgenommen worden. Beim Erhitzen von Harnstoff mit alkoholischer Kalilösung entsteht nach Haller, sowie nach Emich Cyansäure in reichlicher (80%) der berechneten) Menge; auch beim Schmelzen von Harnstoff mit Kaliumhydrat (und Chlorcalcium) bildet sich Cyansäure. Nach Fenton[2]) scheint auch Cyanat zu entstehen, wenn Harnstoff mehrere Wochen mit überschüssigem Kaliumhydrat über Schwefelsäure aufbewahrt wird.

In Berührung mit unterchlorigsaurem Natron und überschüssiger Natronlauge giebt der Harnstoff nach Fenton in der Kälte nur die Hälfte seines Stickstoffs ab, die andere Hälfte tritt als Cyanat auf, nach



$$2\,CH_4N_2O + 3\,NaOCl + 2\,NaOH = 2\,CNONa + 3\,NaCl + N_2 + 5\,H_2O.$$

Die Cyansäure wird aber durch das Hypochlorit nicht angegriffen. Unterbromigsaures Salz verhält sich gegen Harnstoff in Gegenwart von überschüssigem Alkali dem Hypochlorit ähnlich; doch bleibt hier nach Foster[3]) nur 8% des Stickstoffs als Cyanat zurück. Die beiden Reagentien unterscheiden sich auch noch dadurch, dass das Hypobromit fast augenblicklich wirkt, während sich die Reaction beim Hypochlorit nur ausserordentlich langsam vollzieht. Für die Verschiedenheit im Verhalten der beiden Reagentien gegen den Harnstoff stellt Fenton folgende Erklärung auf. In einer Harnstofflösung befänden sich Harnstoff und Ammoncyanat, mit starkem Ueberwiegen des Harnstoffs im Gleichgewicht; das Hypobromit entwickele allen Stickstoff aus dem vorhandenen Harnstoff und der Hälfte des Stickstoffs aus dem Ammoncyanat. Das Hypochlorit greife den Harnstoff überhaupt nicht, sondern nur das Ammoniak im Ammoncyanat an; durch Zersetzung dieses werde das Gleichgewicht zwischen Harnstoff und Ammoncyanat in der Weise gestört, dass nach und nach aller Harnstoff in Ammoncyanat übergeführt werde. Da nun blos

---

[1]) Wöhler, Wittstein's Repertorium d. Pharmacie [3] **6**. 207. 1848. — Berthelot u. André, Bull. de la Soc. chim. [2] **47**. 481. 1887. — Leube, Virchow's Archiv **100**. 552. 1885. — v. Schröder, Archiv f. exper. Pathol. **15**. 368. 1882. — Cazeneuve u. Hugounenq, Bull. de la Soc. chim. [2] **48**. 82. 1887.

[2]) Liebig u. Wöhler, Ann. d. Ch. u. Pharm. **26**. 301. — Alb. Haller, Comptes rendus **102**. 975. 1886. — F. Emich, Monatshefte f. Ch. **10**. 331. 1889. — H. J. H. Fenton, Proceed. of the chem. Soc. **11**. 138. 1895.

[3]) Fenton, Journ. of the chem. Soc. **33**. 300. 1878. u. a. a. O. — W. Foster, Journ. of the chem. Soc. **35**. 122. 1889.

das Ammoniak des Ammoncyanats Stickstoff liefert, die Cyansäure aber keinen, so träte nur die Hälfte des im Harnstoff enthaltenen Stickstoffes gasförmig auf.

Die Einwirkung der salpetrigen Säure auf den Harnstoff verläuft gleichfalls unter Rückbildung von Cyansäure (A. 14).

11. Säuren und Basen beschleunigen die Zersetzung des Harnstoffs, wobei das entstandene kohlensaure Ammon dem Reagens entsprechend weiter zerlegt wird.

Verdünnte Salzsäure zerlegt den Harnstoff nach Berthelot und André schon in der Kälte, in 24 Stunden wurden durch eine 3 proc. Salzsäure 4 % des Harnstoffs zersetzt; mit einer 20 fach verdünnten Salzsäure war die Zersetzung nach dieser Zeit noch merklich, wenn auch viel schwächer. Zweifach saures Phosphat zersetzt den Harnstoff leicht beim Eindampfen (C. G. Lehmann, Neubauer). In 50 cc einer 2 proc. Harnstofflösung, welche ½ St. mit organischer Säure (Weinsäure, Oxalsäure) erwärmt wurde, zersetzten sich nach Hahn u. Nencki 0,317 g. Bei 2—4 stündigem Erhitzen von Harnstoff mit Phosphorsäure auf dem Wasserbade werden nach Schöndorff nur 45—47 % zersetzt, aber bei 4½ st. Erhitzen (von 0,2 g in 200 cc) mit (10 g) krystallisirter Phosphorsäure aller. Magnesia zerlegt den Harnstoff nach Berthelot u. André bei 100° in sehr beträchtlicher Weise (zu mehr als 2 % in der Stunde, indem die Anfangswirkung nahezu proportional der Zeit ist). Natriumhydrat wirkt in der Kälte viel schwächer zersetzend als die Salzsäure; eine Lösung mit 12 % Na_2O zersetzt noch nicht so stark als eine 3 proc. Salzsäure. In höherer Temperatur gehen diese Zersetzungen schnell zu Ende. Alkalische Chlorbaryumlösung zerlegt nach Schöndorff bei 150° allen Harnstoff; doch kann man nach Wurster[1]) eine Harnstofflösung mit Baryumhydrat im luftleeren Raum bei 50° wiederholt zur Trockne verdunsten, ohne dass sie Ammoniak abgiebt. In der Kälte zersetzt sich der Harnstoff mit Calciumhydrat nicht.

12. Mit Alkohol setzt sich der Harnstoff unter Umständen zu Carbaminsäureester (Urethan) um (§ 30. I. B. 3; S. 269).

13. Gleichfalls in kohlensaures Ammon wird der Harnstoff durch Mikroorganismen verwandelt; sie bedingen die alkalische Harngährung.

Der erste derartige und häufigste, der Micrococcus ureae Cohn, wurde von Pasteur entdeckt und seine Lebensweise später namentlich von van Tieghem und v. Jaksch näher untersucht. Gleich lebhaft wie durch diesen Micrococcus wird der Harnstoff durch das von Leube u. Graser aufgefundene und eingehend beschriebene Bacterium ureae und nach denselben Forschern durch die Lungensarcine zersetzt, weniger gut durch zwei andere stäbchenförmige gleichfalls von Leube und Graser beschriebene Spaltpilze. Warrington fügte ihnen noch den Bacillus fluorescens hinzu. Miquel hat gegen 40 urophage Spaltpilze und ausserdem noch Sprosspilze mit der gleichen Eigenschaft isolirt. Einen Urobacillus liquefaciens septicus hat Krogius, einen Staphylococcus ureae candidus und St. ureae liquefaciens Lundström beschrieben. Billet[2]) hält die ver-

1) M. Hahn u. M. Nencki, Arch. biol. **1**. 475. 1892; Arch. f. exper. Pathol. **32**. 201. 1893. — R. Schöndorff, Pflüger's Arch. **62**. 4. u. 13. 1895. — C. Wurster, Centralbl. f. Physiol. 1887. 486.

2) Pasteur, Comptes rendus **50**. 869. 1860; Ann. de chimie et de phys. [3] **64**. 58. 1862. — Van Tieghem, Comptes rendus **58**. 210. 1864; Ann. scient. de l'école norm. sup. I. 4. 209. 1864; Ann. des sc. nat. [5] **2**. 168. 1864. — v. Jaksch, Ztschr. f. physiol. Ch. **5**. 395. 1881. — W. Leube u. E. Graser, Virchow's Archiv **100**. 555. — R. Warrington, Journ. of the chem. Soc. 1888. 1. 727; Berichte d. chem. Gesellsch. **21**. Rf. 739. 1888. — P. Miquel, Comptes rendus **111**. 397. 1890 u. Annales de Micrographie **1** u. **2**. — A. Krogius, Mém. de la Soc. biol. **42**. 65; Jahresb. f. Thierch. 1890. 469. — C. Lundström, Centralbl. f. Bakteriol. **9**. 672. — A. Billet, Comptes rendus **100**. 1052. 1885.

schiedenen urophagen Coccen und Stäbchen für Entwickelungsformen derselben Art und schlägt den gemeinsamen Namen Bacterium ureae vor.

Ausser den genannten Mikroorganismen leben noch viele andere im Harn, ohne dass sie den Harnstoff zersetzen; Leube u. Graser haben im Ganzen etwa 30 Pilzarten aus Harn isolirt. Warrington hat einige 20 Mikroorganismen, darunter die bekanntesten pathogenen, auf ein Vermögen, Harnstoff zu zersetzen, untersucht, aber ausser vom Bacillus fluorescens nur noch vom Micrococcus ureae mit Sicherheit diese Eigenschaft nachweisen können. Krogius hat das Bacterium coli commune sehr oft bei Cystitis und Pyelonephritis gefunden und bezeichnet es als den gewöhnlich bei der Harninfection wirksamen pathogenen Bacillus, während Achard u. Renault[1]) zeigen, dass im Gegentheil einprocentige Harnstofflösungen seine Entwicklung hindern. Der von Lundström aus eitrigen Harnen gezüchtete Streptococcus pyogenes zersetzt den Harnstoff nicht.

Harnstoff zersetzendes Ferment ist ausserordentlich verbreitet. Es findet sich nach Ladureau[2]) in grossen Mengen im Boden, in der Luft, im Oberflächenwasser, Meteorwasser und in vielen unterirdischen Wässern. Es wirkt ebensogut im Vacuum und bei einem Druck von 3 Atmosphären wie bei gewöhnlichem Atmosphärendruck, ebenso gut in Gegenwart von Sauerstoff wie von Stickstoff, Wasserstoff, Kohlensäure und Stickstoffoxydul.

Sehr gewöhnlich ist der Micrococcus ureae. Er bildet in thätigem Zustand schmale, kurze, in zwei oder drei Glieder abgeschnürte Stäbchen, in späteren Stadien rosenkranzförmige Reihen kleiner Kugeln und endlich nach dem Ablauf seiner Lebensthätigkeit Haufen noch kleinerer, schwach glänzender Körnchen (Zoogloeahaufen); in frischem Harn entwickeln sich diese wieder zur Stäbchenform (v. Jaksch). Die obere Hälfte der Fig. 4 auf Tafel II zeigt das erste und letzte Entwickelungsstadium bei sehr starker Vergrösserung. Nach den Untersuchungen von v. Jaksch entwickelt sich der Pilz am Besten bei einer Temperatur von 30—33^0; selbst mehrtägige Einwirkung einer Temperatur von — 15^0 vernichtet ihn nicht, Temperaturen über 40^0 verzögern seine Thätigkeit, Temperaturen über 60^0 tödten ihn. Er bedarf nach von Jaksch, wie schon van Tieghem sehr wahrscheinlich gemacht hat, anorganische Salze zu seiner Entwickelung, und zwar Kalium, Magnesium, Phosphorsäure und Schwefelsäure unumgänglich, ausserdem kohlenstoffhaltige Körper. Als solche können dienen: Salze flüchtiger Fettsäuren, der Milchsäure, Bernsteinsäure, Aepfel-, Wein- und Citronensäure, sowie der Benzoësäure, Glycerin und verschiedene Zuckerarten. Der Harnstoff kann ersetzt werden durch oxaminsaures Natron; den Bedarf an Kohlenstoff und Ammoniak zugleich kann der Pilz entnehmen den Ammonsalzen der Milchsäure, Bernsteinsäure, Aepfel-, Wein- Citronensäure, Benzoësäure, den Salzen der Asparaginsäure und Hippursäure, dem Glykokoll, Leucin, Asparagin, Kreatin, Albumose. Dagegen sind zur Ernährung des Pilzes durchaus untauglich die Ammonsalze der Ameisensäure, Essigsäure, Buttersäure, Oxalsäure, Salicylsäure und das Acetamid. Der Pilz bedarf ferner zu seiner Entwickelung des Sauerstoffs. Die Gährung hört auch auf, auch wenn noch unzersetzter Harnstoff vorhanden ist, sobald sich Gährungsproduct bis zu einem gewissen Grade angesammelt hat.

Miquel[3]) hat die urophagen Mikroben in Peptonbouillon gezüchtet, wozu ein Zusatz von 2—3 g Ammoncarbonat auf das Liter erforderlich ist, weil sie sich in Bouillon sonst gewöhnlich nicht entwickeln. Viele dieser Mikroben, namentlich die Coccen und Sarcinen, gedeihen auch in der neutralisirten, selbst in der schwach sauren Bouillon. Alle diese Mikroben liefern das Harnstoff zersetzende Enzym, wenn man sie in Bouillon wachsen lässt, die keinen Harnstoff enthält; der Harnstoff ist nach Miquel ein schlechtes Nahrungsmittel für sie, sie ver-

---

1) Krogius, Centralbl. f. Bakteriologie **16.** 1006. 1894. — Ch. Achard u. J. Renault, Comptes rendus de la Soc. biol. **44.** 928. 1892.

2) A. Ladureau, Comptes rendus **99.** 877. 1884.

3) P. Miquel, Comptes rendus **111.** 501 u. 397. 1890.

schonen ihn, wenn ihnen Eiweisssubstanzen oder Zucker und Ammonsalze zur Verfügung stehen, was nicht mit den Angaben Miquels übereinstimmt, dass die Mikroben während des Lebens das den Harnstoff zersetzende Enzym absondern. Manche von den Mikroben trüben bei ihrer Entwickelung die Nährflüssigkeit, andere wachsen wieder nur am Boden der Gefässe und bilden einen mehr oder minder körnigen Bodensatz, lassen aber die Flüssigkeit klar.

Das den Harnstoff zersetzende Enzym ist nach der Ansicht der Einen an die lebende Zelle gebunden und wird nur von der todten Zelle abgegeben, nach Miquel dagegen von der lebenden Zelle abgesondert.

Filtrirt man gährenden Harn durch ein 12—15 faches Filter oder durch Thonzellen, so erhält man nach Sheridan Lea ein klares fermentfreies Filtrat; zu gleichen Resultaten gelangte Leube bei sämmtlichen Harnstoff zersetzenden Pilzen. Das Enzym diffundirt, ebenso wenig wie das Invertin der Hefe, durch die Membran der lebenden Zelle. Dagegen lässt sich der todten Zelle, wie Musculus fand und Pasteur und Joubert, sowie Sheridan Lea[1]) bestätigten, das Enzym entziehen. Versetzt man nach Musculus bei Blasenkatarrh entleerten gährenden Harn mit Alkohol, so fällt mit dem Mucin auch das Ferment aus. Man wäscht den Niederschlag mit Alkohol, trocknet ihn in gelinder Wärme und digerirt das so gewonnene Pulver mit Wasser. Die Lösung filtrirt anfangs trüb, dann aber klar. Diese klare Lösung verwandelt, wie der Micrococcus selbst, den Harnstoff in kohlensaures Ammon. Taucht man Curcumapapier in eine solche Lösung und lässt es trocknen, so färbt es sich bei nachträglichem Benetzen mit Harn oder Harnstofflösung in wenig Minuten braun. Zieht man nach Sheridan Lea den bei niederer Temperatur getrockneten Niederschlag mit Wasser aus, fällt die Lösung wieder mit Alkohol und wiederholt das Verfahren, so erhält man das Ferment zuletzt als ein aschenfreies amorphes weisses Pulver, das sich klar in Wasser löst und nur eine sehr schwache Xanthoproteinreaction giebt. Säuren heben selbst in sehr starker Verdünnung (z. B. 0,1 proc. Salzsäure) die Enzymwirkung dauernd auf. Alkalien hemmen sie blos (Musculus). Kochen oder längeres Erwärmen der Lösung des Enzyms auf 80—85⁰ zerstören es (Musculus, Lea).

Um das Enzym rein und in grösserer Menge darzustellen, impft Miquel Peptonbouillon, die im Liter 2—3 g Ammoncarbonat enthielt und in der Kälte sterilisirt (durch Porzellan filtrirt worden) war, mit einer Reincultur. In einigen Tagen ist die Entwicklung des Ferments in vollem Gang und es entsteht so viel Enzym, dass 60—80 g Harnstoff in weniger als 1 St. zersetzt werden. In den Culturen, welche sich blos am Boden des Gefässes entwickeln, findet sich das Enzym in der darüber stehenden klaren Flüssigkeit vor. Alle diese Mikroben secerniren das Enzym, wenn man sie in der harnstofffreien Bouillon wachsen lässt. Das Enzym wirkt am Schnellsten bei 50—55⁰. Es lässt sich nur bei einer 0⁰ nahen Temperatur mehrere Wochen auf gleicher Wirksamkeit erhalten, an der Luft wird es bei 50⁰ in $^3/_4$ St. vernichtet, bei 75⁰ in einigen Minuten, bei 80⁰ in einigen Secunden. Mehrere der Mikroben selbst können ohne Schaden 2—3 St. bei 95⁰ gehalten werden. Der Lösung zugesetztes Ammoncarbonat beeinträchtigt die Wirkung des Enzyms nicht, ebensowenig Kochsalz in kleiner Menge, Harnsäure, Ammon- oder Alkalisalze, Extractivstoffe, Eiweiss, grosse Mengen Zucker. Eine 10 proc. Harnstofflösung schädigt aber die Enzymwirkung, in 20 proc. Harnstofflösung ist die Zersetzung sehr gering und in 30 proc. findet sie gar nicht mehr statt.

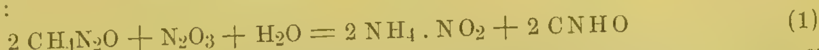
14. Mit salpetriger Säure zersetzt sich der Harnstoff zu Kohlensäure, Stickstoff und Wasser; der Verlauf der Reaction ist jedoch, wie

---

[1]) Sheridan Lea, Journ. of Physiol. 6. 136. 1885. — W. Leube, a. a. O. 564. — Musculus, Comptes rendus 82. 333. 1876; Pflüger's Archiv 12. 214. — Pasteur und Joubert, Comptes rendus 83. 5. 1876.

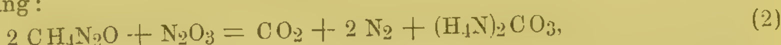
A. Claus[1]) dargethan hat, von der relativen Menge der salpetrigen Säure und von Nebenumständen abhängig.

a. Setzt man zu Harnstoff in wässriger Lösung in der Kälte auf 2 Mol. Harnstoff 1 Mol. Salpetrigsäureanhydrid (oder 2 Mol. Salpetrigsäurehydrat) hinzu, so zerfällt der Harnstoff nach Liebig u. Wöhler[2]) in salpetrigsaures Ammon und Cyansäure:



$$2\,CH_4N_2O + N_2O_3 + H_2O = 2\,NH_4\,.\,NO_2 + 2\,CNHO \qquad (1)$$

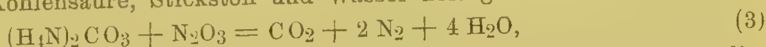
Erwärmt man alsdann, so setzt sich das salpetrigsaure Ammon in Stickstoff und Wasser um: $H_4N\,.\,NO_2 = N_2 + 2\,H_2O$ und die Cyansäure verwandelt sich zunächst in saures kohlensaures Ammon: $CNHO + 2\,H_2O = H_4N\,.\,H\,.\,CO_3$, das saure Carbonat aber weiterhin in neutrales Salz, Kohlensäure und Wasser: $2\,H_4N\,.\,H\,.\,CO_3 = (H_4N)_2CO_3 + CO_2 + H_2O$. Berücksichtigt man bei dieser Reihe von Umsetzungen nur die Endprodukte, so lässt sich die Reaction ausdrücken durch die Gleichung:



$$2\,CH_4N_2O + N_2O_3 = CO_2 + 2\,N_2 + (H_4N)_2CO_3, \qquad (2)$$

es entstehen auf 1 Vol. Kohlensäure 2 Vol. Stickstoff.

Durch ein zweites Molekül Salpetrigsäureanhydrid wird das kohlensaure Ammon weiter in Kohlensäure, Stickstoff und Wasser zerlegt:



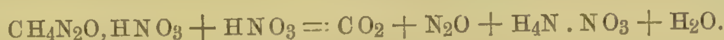
$$(H_4N)_2CO_3 + N_2O_3 = CO_2 + 2\,N_2 + 4\,H_2O, \qquad (3)$$

und das Verhältniss des Kohlensäurevolumens zu dem des Stickstoffs ist dasselbe wie in Gleichung (2).

b. Trägt man in eine bereits heisse Harnstofflösung auf 2 Mol. Harnstoff wieder 1 Mol. Salpetrigsäureanhydrid ein, so beginnt die Reaction mit der Zersetzung des Harnstoffs nach Gleichung (2), das enstehende kohlensaure Ammon wird aber sofort nach Gleichung (3) weiter zersetzt, und am Ende der Reaction ist noch die Hälfte des Harnstoffs übrig. Ein Ueberschuss an salpetriger Säure zerlegt aber auch diesen Rest Harnstoff.

c. Um die vollständige Zersetzung des Harnstoffs durch salpetrige Säure zu erreichen, ist es nicht nöthig, die salpetrige Säure als solche zu verwenden, sondern man kann sie in der Mischung selbst aus einem Nitrit durch Hinzufügen einer Säure entwickeln. Das nach Gleichung (2) gebildete Ammoncarbonat liefert zwar mit der zur Zersetzung des Nitrits im Ueberschuss verwendeten Säure das Ammonsalz dieser Säure, doch wird dieses der Zersetzung nicht entzogen, wie Kreusler sowie Emmerling[3]) am Ammonsulphat gezeigt haben, sondern es giebt bei der Einwirkung überschüssiger salpetriger Säure in der Wärme gleichfalls seinen ganzen Stickstoff gasförmig ab. Zur Zerlegung des Nitrits verwendet man nach Emmerling bei der Zersetzung des Harnstoffs am Besten conc. Essigsäure (Eisessig) und keine Mineralsäure (Salpetersäure), weil sonst ein grosser Theil der salpetrigen Säure als Stickoxyd verloren geht. Bei Verwendung von conc. Essigsäure ist die Reaction in Wasserbadwärme in 1/2 Stunde beendet; die Zersetzung des Harnstoffs ist auch bei Anwendung verdünnter Säure und in der Kälte eine vollständige, die Reaction verläuft dann aber erheblich langsamer.

d. Mit wasserfreier farbloser Salpetersäure zersetzt sich der salpetersaure Harnstoff nach Franchimont[4]) in Kohlensäure, Stickoxydul und salpetersaures Ammon:



$$CH_4N_2O,HNO_3 + HNO_3 = CO_2 + N_2O + H_4N\,.\,NO_3 + H_2O.$$

---

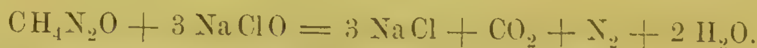
1) A. Claus, Berichte d. chem. Gesellsch. **4**. 140.

2) Liebig u. Wöhler, Ann. d. Chem. u. Pharm. **26**. 261.

3) U. Kreusler, Landwirtsch. Versuchsst. **31**. 300. 1885. — A. Emmerling, das. **32**. 446. 1886.

4) Franchimont, Recueil des trav. chim. des Pays-Bas **2**. 94; Jahresb. d. Ch. 1883. 470.

15. Bringt man Harnstoff mit einer Lösung von unterchlorigsaurem Salz in der Wärme (Davy, Leconte) oder unterbromigsaurem Salz bei gewöhnlicher Temperatur (Knop[1]) zusammen, so zerfällt er in Kohlensäure, Stickstoff und Wasser, bei Anwendung des Natronsalzes nach:



$$CH_4N_2O + 3\,NaClO = 3\,NaCl + CO_2 + N_2 + 2\,H_2O.$$

Wenn die Salzlösung überschüssiges Alkali enthält, so wird die Kohlensäure absorbirt und es entwickelt sich nur der Stickstoff; aus dem Volumen desselben lässt sich die Menge des zersetzten Harnstoffs berechnen. Die Zersetzung ist aber keine vollständige, es bleibt Stickstoff sowohl als Cyansäure (nach Fenton und Foster, d. §. A. 10), sowie nach Fauconnier und nach R. Luther[2]), als Salpetersäure zurück.

Nach Fenton's Ansicht verläuft die Reaction nach:



$$2\,CH_4N_2O + 3\,NaOCl + 2\,NaHO = 2\,CNNaO + 3\,NaCl + N_2 + 5\,H_2O,$$

und man könnte demnach annehmen, dass die Ueberführung der Cyansäure in Stickstoff erfolge nach:



$$2\,CNHO + 3\,NaOCl = 2\,CO_2 + 3\,NaCl + N_2 + H_2O.$$

Die Reaction wäre also analog der Zersetzung des Harnstoffs durch salpetrige Säure (d. §. A. 14).

Wie unterbromigsaures Salz verhält sich nach Bartley[3]) auch eine Mischung von Bromkalium und Hypochlorit.

Lässt man nach Hüfner 100 cc Bromlauge mit 10 cc Brom in 100 cc auf 5 cc einer 1 proc. Harnstofflösung einwirken, so erhält man für 1 g Harnstoff statt 371,37 cc Stickstoff (0° und 760 mm Quecksilber) nur 354,33 cc. Durch Verwendung schwächerer Harnstofflösungen lässt sich nach Hüfner u. Schleich, Falck, Arnold, Duggan sowie Wormley der Verlust an Stickstoff vermindern. Der Verlust ist ferner nach Méhu, Foster, Hüfner u. Schleich, Falck, Arnold, Pflüger u. Schenck geringer, je concentrirter die Bromlauge, und nach Falck, Arnold sowie Pflüger[4]), je concentrirter

1) Davy, Philos. Magaz. [4] 7. 385. 1854; Journ. f. prakt. Chem. 63. 188. — Leconte, Comptes rendus 47. 237. 1858; Journ. d. chimie méd. 1858. 649. — Knop, Chem. Centralbl. 1860. 244; 1870. 132 u. 294.

2) Fauconnier, Bull. de la Soc. chim. [2] 33. 102. 1880. — R. Luther, Ztschr. f. physiol. Ch. 13. 502. 1889.

3) E. H. Bartley, Journ. of the Amer. chem. Soc. 12. 283; Chem. Centralbl. 1891. 1. 168.

4) Hüfner, Ztschr. f. physiol. Ch. 1. 350; Jacobj, Ztschr. f. anal. Ch. 24. 310. — Schleich, Journ. f. prakt. Ch. [2] 10. 262. — F. A. Falck, Pflüger's Archiv 26. 391. — C. Arnold, Repert. der anal. Ch. 2. 4; Ztschr. f. anal. Ch. 21. 606; Archiv d. Pharm. [3] 20. 356. — J. R. Duggan, Amer. chem. Journ. 4. 47; Chem. Centralbl. 1882. 645. — G. Wormley, Chem. News 45. 27; Jahrb. f. Thierch. 1882. 64. — Pflüger und Schenck, Pflüger's Arch. 38. 325. 1886. — F. Schenck, daselbst 38. 511. — Pflüger, daselbst 38. 503.

die Alkalilauge angewandt wird. Die Steigerung der Concentration der Lauge ist auf die Verminderung des Verlustes von grösserem Einfluss als die Vermehrung des Broms. Von Bedeutung ist ferner die Temperatur, worauf Méhu[1]) zuerst aufmerksam gemacht hat, und die Gegenwart fremder (stickstofffreier) Substanzen. Bei der Anwendung des Verfahrens auf die Bestimmung des Harnstoffs im Harn kommt noch in Betracht, dass die in ihm neben dem Harnstoff enthaltenen stickstoffhaltigen Substanzen mit Bromlauge gleichfalls Stickstoff entwickeln.

Hüfner und Schleich konnten den Verlust an Stickstoff bei Verwendung einer 0,5 proc. Harnstofflösung statt einer 1 proc. von 4,5 % auf 1 % und darunter herabdrücken. Falck erhielt (bei Gegenwart von überschüssiger Alkalilauge) aus 2 proc. Harnstofflösung 99,20 % des berechneten Stickstoffs, aus 1 proc. Harnstofflösung 99,27, aus 0,5 proc. 99,91 %; Arnold, unter ähnlichen Verhältnissen, aus 2 proc. Harnstofflösung 98,24 % Stickstoff, aus 1,5 proc. 99,07, aus 1 proc. 99,78; Wormley im Mittel (aus 10—40 mg Harnstoff) 99,92 % des Stickstoffs, wenn nicht mehr als 1 Theil Harnstoff auf 1200 Theile der gesammten Flüssigkeit vorhanden war.

Mit einer Lauge, welche in 1250 cc 25 cc Brom (und 100 g Natriumhydrat) enthielt, sahen Pflüger und Schenck bei Verwendung von 1 proc. Harnstofflösung den Verlust an Stickstoff auf 13,8—22,2, Schenck auf 22,6—37,3 % steigen; mit einer Lauge, welche dieselbe Menge Brom und Natriumhydrat in nur 250 cc Wasser gelöst enthielt (Knop'sche Lauge), betrug der Ausfall an Stickstoff in den Versuchen von Pflüger und Schenck 4,4%, in denen von Schenck 4,2 %; mit Lauge, welche dieselben Bestandtheile in 150 cc Wasser gelöst enthielt, sank nach Schenck der Fehler auf 1,42 und 1,59 %. Foster verminderte durch Verwendung einer bromreicheren Lauge den Verlust an Stickstoff von 7,7 auf 2,0 %, Arnold durch Verwendung einer Lauge mit 8 cc Brom in 100 cc auf 1,5 %. Mit diesen Thatsachen steht die allgemein gemachte Erfahrung in Zusammenhang, dass eine alte Bromlauge die Zersetzung mangelhafter bewirkt, als eine frische; ferner, dass eine Bromlauge, welcher man das Brom nur tropfenweise unter möglichster Vermeidung der Erwärmung zugesetzt hat, nach Pflüger den Harnstoff vollkommener zersetzt, als eine ohne Befolgung dieser Vorsichtsmaassregeln bereitete. Ferner liefert nicht jedes Brom die gleichen Resultate. Zum Theil wenigstens erklärt sich aus diesen Erfahrungen auch, dass die Zersetzung eines grösseren Volumens Harnstofflösung mit einem grösseren Verlust an Stickstoff verbunden ist, als die Zersetzung eines kleineren Volumens derselben Concentration; daher ist der Verlust im Hüfner'schen Apparat nach Schleich[2]) sowie nach Pflüger und Schenck grösser, wenn die die Harnstofflösung aufnehmende Kapsel grösser, kleiner, wenn sie kleiner ist. Es macht sich also auch die Form des Zersetzungsgefässes geltend.

Vermischt man die Harnstofflösung vor dem Zufluss der Bromlauge mit Alkalilauge, so erhält man mehr Stickstoff, als wenn man die Anwendung der Alkalilauge unterlässt. Arnold fügte 5 cc der Harnstofflösung 12,5 cc einer Kalilauge von 1,48 Dichte (45 % KHO) (in einer 17,5 cc grossen Kapsel des Hüfner-schen Apparats) hinzu und gelangte so zu den oben erwähnten günstigen Resultaten. Duggan erhielt aus 2.0—7,1 proc. Harnstofflösung 99,02—99,91 % des Stickstoffs, wenn er die Bromlauge erst nach der Alkalilauge der Harnstofflösung zusetzte. Falck befolgte bei den Versuchen, deren Resultat oben mitetheilt ist, ein ähnliches Verfahren. Pflüger verminderte in dieser Weise den Ausfall an Stickstoff bei Verwendung von 4—5 cc 1 proc., 0,5 und 0,25 proc. Harnstofflösung gegenüber seinen anderen Erfahrungen auf 3,6, 3,7 und 3,9 %; in andern solchen Versuchen von Pflüger und Schenck betrug der Fehler 2,4—5,0 %.

[1]) Méhu, Bull. de la Soc. chim. [2] **33**. 410.
[2]) Schleich, Journ. f. prakt. Ch. [2] **10**. 262.

Nach Wormley erhält man die günstigsten Resultate, wenn die Temperatur nicht unter 20⁰ sinkt. — Eijkman, sowie Salkowski haben die Zersetzung des Harnstoffs im Schulze-Tiemann'schen[1]) Apparat in der Wärme vorgenommen. In Eijkman's Versuchen, der allein den Bestimmungsfehler ermittelte, beträgt der Verlust an Stickstoff für Harnstofflösungen und Bromlauge verschiedener Concentration im Mittel 4,44 % (3,8—5,6).

Bei Anwesenheit von fremder Substanz in der Harnstofflösung wird das Deficit geringer; so bei Gegenwart von Traubenzucker (Méhu, Fauconnier, Hüfner), Rohrzucker (Méhu), Alkohol (Fauconnier), Acetessigäther (Hüfner); Gleiches beobachtete Ostwald vom Acetamid bei der Zersetzung von Salmiak durch Bromlauge. Es kommt dann (bei Gegenwart von Zucker) nach Luther nicht zur Bildung von Salpetersäure. Das durch das Auftreten von Cyansäure bewirkte Deficit bleibt jedoch bestehen. Ein grosser Ueberschuss von Zucker kann nach Wormley die Zersetzung des Harnstoffs hindern. Mit Bezug auf die theilweise Rückbildung von Cyansäure aus dem Harnstoff unter der Einwirkung der Bromlauge ist die Angabe von Allen[2]) beachtenswerth, dass bei der Zersetzung von 0,1 g Harnstoff in 5 cc Wasser bei gleichzeitiger Gegenwart von 0,250 g Kaliumcyanat die Ausbeute an Stickstoff von 91 auf 97 % steigt, wenn die Mischung zur Bromlauge gegossen wird, auf 99,8—100 % aber, wenn man die Bromlauge langsam zur Mischung von Harnstoff, Cyanat und concentrirter Lauge fliessen lässt. Silbercyanat mit oder ohne Kochsalz, sowie Cyankalium, welches durch die Bromlauge zu Cyansäure oxydirt wird, geben minder gute Resultate.

Bei der Behandlung mit Bromlauge liefert die Harnsäure nach Knop und Wolf etwas mehr als $^1/_3$ ihres Stickstoffs, nach Hüfner und nach Bruehl nicht ganz die Hälfte, und zwar sehr langsam, nach Falck 47,8 %, nach Esbach nur $^1/_{20}$; nach Hüfner das Guanin $^1/_5$—$^2/_5$, das Caffein etwas mehr als $^1/_4$; das Allantoin nach Malerbe $^1/_2$, das Kreatin nach Hüfner und nach Esbach $^2/_3$, das Kreatinin nach Falck 37,4 %, nach Esbach $^1/_{10}$. Das Oxamid verhält sich nach Hüfner wie der Harnstoff. Auch das Eiweiss entwickelt nach Hüfner langsam und stetig Stickstoff. Nach Calvert geben Leim, Albumin, Caffein, Wolle, Seide bei der Einwirkung von Chlorkalk etwa $^1/_3$ ihres Stickstoffs gasförmig ab. Das Ammoniak zersetzt sich mit Bromlauge nach vielfachen Erfahrungen mindestens ebenso leicht, wie der Harnstoff. — Bei der Einwirkung der Bromlauge in der Wärme erhielt Eijkmann aus Ammoniak 99,0—99,2 % seines Stickstoffs, aus Harnsäure 63 %, aus Kreatin 68 % ihres Stickstoffs. — Keinen Stickstoff entwickelt dagegen nach Knop, Hüfner, Esbach die Hippursäure; ebenso keinen nach Hüfner Glykocoll, Leucin, Asparagin, Amidobenzoësäure, Tyrosin, Taurin, Acetamid, Benzamid, Salicylamid, Aethylamin, Anilin, Coniin, Nicotin. — Nach Pflüger und Bohland[3]) gleichen sich die positiven und negativen Fehler bei der Behandlung des Harns mit Bromlauge aus.

---

1) J. F. Eijkmann, Recueil des travaux chim. des Pays-Bas **3**. 125; Ztschr. f. anal. Ch. **23**. 594; Ber. d. chem. Gesellsch. **17**. Ref. 449. 1884. — Salkowski, Ztschr. f. physiol. Ch. **10**. 110. 1886. — Schulze-Tiemann, bei Fresenius, Anleitung zur quant. Analyse, 6. Aufl. **2**. 154.

2) Méhu, Comptes rendus **89**. 175 und 486; u. a. a. O. — Fauconnier, Bull. de la Soc. chim. [2] **33**. 102. — Hüfner, Ztschr. f. analyt. Ch. **24**. 316. — W. Ostwald, Journ. f. prakt. Ch. [2] **27**. 10. — R. Luther, Ztschr. f. physiol. Ch. **13**. 504. 1889. — A. K. Allen, Chem. News **73**. 103; Chem. Centralbl. 1896. **1**. 829.

3) Hüfner, Journ. f. prakt. Ch. [2] **3**. 20. 1871. — Bruehl, Ztschr. f. anal. Ch. **15**. 476. 1876. — Falck, Pflüger's Archiv **26**. 406. — Esbach, Gaz. méd. de Paris **24**. 1873. — Malerbe, Ber. d. chem. Gesellsch. **19**. Ref. 252. — Calvert, Jahresb. d. Ch. 1870. 920. — Eijkman, Ber. d. chem. Gesellsch. a. a. O. — Knop, Ber. d. königl. sächs. Gesellsch. d. Wissensch. 1870. 17. — Pflüger u. Bohland, Pflüger's Archiv **39**. 143. 1886.

16. In alkalischer Lösung widersteht der Harnstoff nach Béchamp[1]) bei gewöhnlicher Temperatur der oxydirenden Wirkung des übermangansauren Kalis; bei gleichzeitiger Gegenwart von Schwefelsäure liefert er aber, namentlich in der Wärme, auf 2 Vol. Kohlensäure 1 Vol. Stickstoff und in der Flüssigkeit befindet sich schwefelsaures Ammon:



$$2\ CH_4N_2O + Mn_2O_7 = 2\ CO_2 + N_2 + 2\ H_3N + H_2O + 2\ MnO_2.$$

Eine angesäuerte 0,01 n Permanganatlösung zersetzt nach Tiemann und Preusse bei 100° den Harnstoff nicht. — In Gegenwart von Bromkalium zersetzt das Permanganat den Harnstoff nach Smith[2]) in Stickstoff, Kohlensäure und Wasser unter theilweiser Oxydation des Stickstoffs zu Salpetersäure.

17. Ein Gemisch von Schwefelsäure und Kaliumdichromat entwickelt aus Harnstoff keinen Stickstoff, aber nach Zusatz von Salpetersäure tritt nach Allen[3]) eine starke Stickstoffentwicklung ein.

B. *Darstellung.* 1. Harn wird mit Kalk- oder Barytwasser stark alkalisch gemacht, mit concentrirter Chlorcalcium- oder Chlorbaryumlösung ausgefällt (§ 2. a. 7. f. S. 32), das Filtrat mit verdünnter Schwefelsäure neutralisirt und abermals filtrirt; oder man fällt Harn vollständig mit einer Lösung von neutralem essigsauren Blei, das Filtrat mit einer Lösung von basisch essigsaurem Blei aus und entfernt aus dem Filtrat das überschüssige Blei durch Einleiten von Schwefelwasserstoff. Das zuletzt erhaltene Filtrat dampft man zuerst über freiem Feuer, dann im Wasserbad zur Syrupconsistenz ein, zieht den Rückstand mit Alkohol aus, verdampft nach dem Filtriren abermals zur Trockne und behandelt die jetzt gebliebene Salzmasse mit absolutem Alkohol. Aus der Lösung krystallisirt der Harnstoff nach dem Verdunsten in mehr oder minder farblosen Nadeln.

Zur weiteren Reinigung werden die Krystalle in wenig Wasser gelöst und die kalt gehaltene Lösung mit farbloser Salpetersäure versetzt, worauf sich salpetersaurer Harnstoff als blätterige Masse ausscheidet. Die Krystalle werden in dünner Schicht auf einem porösen Stein (Ziegel) von der Mutterlauge befreit, in Wasser gelöst, die Lösung längere Zeit mit kohlensaurem Baryt erwärmt, wobei sich unter Entweichen von Kohlensäure salpetersaurer Baryt bildet und der Harnstoff frei wird; die vom unzersetzt gebliebenen kohlensauren Baryt abfiltrirte Flüssigkeit wird dann im Wasserbad abgedampft. Aus dem Rückstand gewinnt man den Harnstoff durch Behandeln desselben mit absolutem Alkohol in mässiger Wärme. Ist der so dargestellte Harnstoff noch gefärbt, so ist es am Zweckmässigsten, denselben nochmals mit Salpetersäure zu fällen und das Nitrat in der angegebenen Weise zu zerlegen. — Auch durch Digestion des salpetersauren Harnstoffs mit Salpetersäure in der Wärme gelingt es, denselben zu entfärben, jedoch wegen der gleichzeitigen Bildung von salpetriger Säure nicht ohne erheblichen Verlust.

Der so gewonnene Harnstoff hinterlässt beim Verbrennen auf dem Platinblech noch Asche; von den beigemengten Salzen lässt er sich in einfacher Weise dadurch befreien, dass man ihn in der Kälte in einem Gemisch von Alkohol und Aether auflöst und die Lösung verdunstet (Huppert). v. Schröder fällt zu dem-

---

1) Béchamp, Ann. d. Ch. u. Pharm. **100**. 250. 1856.

2) Tiemann u. Preusse, Ber. d. chem. Geselsch. **12**. 1915. — J. H. Smith, Chemiker-Ztg. **14**. 1233; Chem. Centralbl. 1890. **2**. 674.

3) A. K. Allen, Chem. News **73**. 103; Chem. Centralbl. 1896. **1**. 829.

selben Zweck die concentrirte wässrige Lösung mit dem mehrfachen Volumen absoluten Alkohol, verdampft das Filtrat zur Trockne, löst den Rückstand in wenig absolutem Alkohol, versetzt mit 2—3 Vol. Essigäther, verdunstet das Filtrat und wiederholt die Aetherfällung. — Hofmeister[1]) fällt die völlig klare concentrirte Harnstofflösung mit abgekühlter Salpetersäure, wäscht die abgeschiedenen Krystalle erst mit salpetersäurehaltigem Aceton, dann mit einer Mischung von Aceton und Aether, und zuletzt mit reinem Aether. Den aus dem Nitrat mittelst Baryumcarbonat dargestellten Harnstoff fällt er aus der alkoholischen Lösung mit dem halben Volumen Aether, krystallisirt den ausgeschiedenen Harnstoff aus Wasser um und wäscht ihn mit wenig warmem Aceton.

2. Aus cyansaurem Kali. Man schmilzt nach Clemm[2]) 8 Thle. entwässertes Blutlaugensalz mit 3 Thlen. kohlensaurem Kali so lang, bis eine herausgenommene Probe zu einem milchweissen Glase erstarrt, nimmt den Tiegel mit dem entstandenen Cyankalium aus dem Feuer, setzt in kleinen Portionen 15 Thle. vorher scharf getrocknete Mennige hinzu, erhitzt darauf noch etwa 10 Minuten unter häufigem Umrühren, lässt das gebildete metallische Blei absitzen, und giesst die Masse auf eine Eisenplatte aus. Nach dem Erkalten weicht man das so gewonnene rohe cyansaure Kali mit einer Lösung von 8 Theilen schwefelsaurem Ammon in 40—50 Theilen Wasser auf, filtrirt, wenn Alles zergangen ist, und verdampft das Filtrat zur Trockne. Die trockne Salzmasse kocht man mit kleinen Portionen 90 proc. Alkohol mehrmals aus, filtrirt, destillirt den Alkohol wieder ab und lässt krystallisiren.

J. Williams[3]) empfiehlt gleich von vornherein käufliches Cyankalium zu verwenden. Die mit Mennige oxydirte Schmelze zieht derselbe nach dem Pulvern mit kaltem Wasser aus, befreit das Filtrat durch Zusatz von salpetersaurem Baryt von den kohlensauren Salzen und fällt darauf aus der klaren Lösung durch salpetersaures Blei reines cyansaures Blei, welches nach dem Auswaschen und Trocknen mit der äquivalenten Menge von schwefelsaurem Ammon und dem nöthigen Wasser durch Digeriren in der Wärme zersetzt wird. Das cyansaure Blei hält sich beim Aufbewahren länger unzersetzt, als das cyansaure Kali.

C. *Nachweis.* Um den Harnstoff im Harn qualitativ nachzuweisen, genügt es in den meisten Fällen, eine kleine Quantität (15—20 cc) im Wasserbade bis zur Syrupconsistenz abzudampfen und den Rückstand mit Alkohol auszuziehen. Der Harnstoff befindet sich in der alkoholischen Lösung und bleibt, nachdem der Weingeist im Wasserbade verdunstet ist, mehr oder weniger gefärbt zurück.

Beim Verdunsten des sauren oder alkalischen Harns zersetzt sich der Harnstoff theilweise. Will man den hierdurch bedingten Verlust vermeiden, so kann man den Harnstoff als die unter A. 5 beschriebene Quecksilberverbindung abscheiden. Zu diesem Behufe wird der Harn mit Barytwasser stark alkalisch gemacht und dann mit einer kalt gesättigten Lösung von salpetersaurem Baryt ausgefällt; die so von der Phosphorsäure befreite Flüssigkeit wird nach dem Filtriren so lange mit salpetersaurem Quecksilberoxyd versetzt, als der entstehende Niederschlag noch weiss ist, wobei man die Flüssigkeit, sobald sie saure Reaction annimmt, mit Barytwasser neutralisiren muss. Wird der Niederschlag gelblich, so hört man mit dem Zusatz des Quecksilbersalzes auf, filtrirt den Niederschlag ab, wäscht ihn mit Wasser gut aus, suspendirt ihn in Wasser und zerlegt ihn mit Schwefelwasserstoff. Das Filtrat wird durch einen Strom Kohlensäure von Schwefel-

---

1) v. Schröder, Archiv. f. exper. Pathol. **15**. 370. — Hofmeister, daselbst **37**. 426.

2) Clemm, Ann. d. Chem. u. Pharm. **66**. 382.

3) J. Williams, Journ. of the chem. Soc. [2] **6**. 63; Chem. Centralbl. 1868. 576. — Brücke, Monatshefte f. Ch. **3**. 195.

wasserstoff befreit und darauf mit kohlensaurem Baryt erwärmt, so lange Aufbrausen stattfindet. Die so neutralisirte Flüssigkeit wird im Wasserbad zur Trockne verdunstet, der Rückstand mit absolutem Alkohol ausgezogen und die Lösung verdunstet. Sie hinterlässt dann den Harnstoff, der nach B. 1. durch Aetheralkohol zu reinigen ist. — Eiweisshaltiger Harn muss vor dem Fällen mit salpetersaurem Quecksilberoxyd vom Eiweiss befreit werden.

Die prismatische Form der erhaltenen Krystalle allein beweist die Gegenwart des Harnstoffs nicht; es können Krystalle von salpetersaurem Baryt oder der salpetersauren Alkalien mit ihm verwechselt werden. Dass die gewonnenen Krystalle aus Harnstoff bestehen, erkennt man an folgenden Reactionen:

1. Möglichst concentrirte wässrige Lösungen werden nach und nach mit concentrirter Salpetersäure oder gesättigter Oxalsäurelösung versetzt; bei Gegenwart von Harnstoff entsteht ein krystallinischer Niederschlag von der A. 4. beschriebenen Beschaffenheit.

Die Reaction lässt sich auch unter dem Mikroskop vornehmen. — Da diese Harnstoffsalze in Wasser nicht unlöslich, sondern nur schwer löslich sind, so verfährt man, wenn es sich um den Nachweis von sehr wenig Harnstoff handelt, zur Darstellung des Oxalats besser so, dass man die Substanz in wenig absolutem Alkohol löst und die Lösung mit einer concentrirten Lösung von Oxalsäure in Aether (Brücke) oder in einer Mischung von Essigäther und Alkohol (v. Schröder[1]) versetzt. Noch sicherer gelingt der Nachweis nach Brücke, wenn man die Substanz in warmem Amylalkohol löst und mit einer kalt gesättigten Lösung von Oxalsäure in Amylalkohol vermischt. Der Amylalkohol soll sich mit Oxalsäure nicht roth oder braun färben, darf aber kleine Mengen Aethylalkohol enthalten. Sind die Krystalle des oxalsauren Harnstoffs zu klein, so löst man sie durch Erwärmen in der Mischung und lässt erkalten. Auch kann man der amylalkoholischen Harnstofflösung die Oxalsäure in Substanz oder in ätherischer Lösung hinzufügen.

2. Man stellt die Furfurolreaction nach Schiff an (A. 7. a).

3. Zur Probe von Lüdy (A. 7. c) lässt sich sehr unreiner Harnstoff (der alkoholische Harnauszug direkt) verwenden.

Die alkoholische Lösung wird mit einem geringen Ueberschuss von Ortho-Nitrobenzaldehyd verdunstet, und der Rückstand in der Schale selbst mit warmem Alkohol vom Ueberschuss des Reagens befreit. War Harnstoff vorhanden, so hinterbleibt ein weisslicher pulvriger Körper. Man erhitzt diesen mit einer verdünnten Lösung von salzsaurem Phenylhydrazin und einigen Tropfen 10 proc. Schwefelsäure zum Sieden; die heisse Säure macht aus dem Diureïd den Benzaldehyd frei und dieser liefert mit dem Phenylhydrazin eine rothe Verbindung. Färbt sich die Flüssigkeit bei der Probe roth oder wenigstens orange, so ist Harnstoff nachgewiesen. Da die Probe auf dem Nachweis des Benzaldehyds beruht, so setzt sie die vollständige Entfernung des freien Benzaldehyds voraus. Da der Niederschlag fest an der Wand der Schale haftet, so lassen sich noch Spuren Harnstoff nachweisen. Lüdy erhielt die Reaction mit 0,1 cc eines Harns, welcher 0,55 % Harnstoff enthielt, noch gut, und auch 0,02 cc (mit 1 mg Harnstoff) gaben die Probe noch. — Statt das Diureïd mit angesäuertem Wasser zu zersetzen, kann man ihm auch in der Kälte etwas Natronlauge und Aceton hinzufügen, wodurch nach einiger Zeit Bildung von Indigblau eintritt; auf diese Weise lassen sich noch 3 mg Harnstoff nachweisen.

---

[1]) v. Schröder, Archiv f. exper. Pathol. 15. 374.

4. Man erhält die Krystalle einige Zeit im Schmelzen und sucht in der Lösung Biuret oder, nach Bloxam's [1]) Vorschlag, Cyanursäure auf.

Zu diesem Behufe presst man einige der erhaltenen Krystalle zwischen Fliesspapier trocken, bringt sie in ein gleichfalls trockenes Reagensglas und erhitzt sie gelinde, bis sie in ihrer ganzen Masse geschmolzen sind, oder bis zur Trockne; die flüssig gebliebene Schmelze enthält Biuret, der trockene Rückstand Cyanursäure.

Das Biuret weist man nach, indem man die Schmelze nach dem Erkalten in Wasser löst, reichlich Natronlauge und darauf tropfenweise eine verdünnte Lösung von schwefelsaurem Kupfer hinzusetzt. Die Lösung färbt sich anfangs rosa, dann, je weiter man mit dem Zusatz des Kupfersalzes fortschreitet, rothviolett und endlich blauviolett (Biuretreaction). — Für den Nachweis der Cyanursäure löst man die Schmelze in Wasser unter Zusatz von 1—2 Tropfen Ammoniak, fügt einen Tropfen Chlorbaryumlösung hinzu und schüttelt kräftig; bei Anwesenheit von Cyanursäure entsteht ein krystallinischer Niederschlag. Auch kann man die Lösung der Schmelze mit starker Natronlauge auf einem Uhrglase erwärmen; ist Cyanursäure vorhanden, so fällt das neutrale Natronsalz in feinen Nadeln aus, die beim Erkalten wieder verschwinden. Oder besser, man löst die Schmelze in Wasser, fügt einen Tropfen verdünnte Kupfervitriollösung hinzu und darauf vorsichtig Ammoniak; hat man einen Ueberschuss von Ammoniak vermieden, so entsteht ein amethystfarbener krystallinischer Niederschlag von Cuprammoniumcyanurat.

5. Man überschichtet die Krystalle nach v. Schröder [2]) unter dem Mikroskop mit einer Lösung von Brom in Chloroform, in welchem sich der Harnstoff nicht löst; bei Gegenwart von Harnstoff verschwindet derselbe unter Gasentwicklung.

Auch salpetersaures Ammon zersetzt sich mit Brom unter Gasentwicklung. Um dieses zu unterscheiden, setzt man zu einem mikroskopischen Präparat eine Lösung von Platinchlorid in Essigäther. Der Harnstoff bleibt unverändert, währene die Krystalle des salpetersauren Ammons in Pseudomorphosen von Platinsalmiak übergehen.

6. Man versetzt eine mässig concentrirte Lösung von salpetrigsaurem Kali mit nur so viel Salpetersäure, dass sie keine Gasblasen entwickelt, und vermischt sie mit einer Lösung der Krystalle; selbst wenn die Harnstofflösung verdünnt war, entwickelt sich nun anhaltend Gas (Stickstoff und Kohlensäure). Zu dieser Reaction lässt sich auch eine Lösung von salpetersaurem Harnstoff verwenden.

7. Eine verdünnte Lösung der Krystalle giebt, wenn sie aus Harnstoff bestehen, mit salpetersaurem Quecksilberoxyd einen reichlichen flockigen, weissen Niederschlag, der sich in wenig Kochsalzlösung löst und auf Zusatz von salpetersaurem Quecksilberoxyd wieder zum Vorschein kommt.

Die Reactionen 5 und 6 erhält man auch mit Ammonsalzen.

8. Ist das Präparat völlig rein, so lässt es sich auch zur Ermittelung des Schmelzpunktes und zur Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl verwenden.

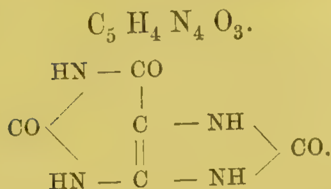
---

1) C. L. Bloxam, Chem. News 47. 285; Ztschr. f. anal. Ch. 23. 70.

2) v. Schröder, a. a. O. 372

§ 33. Harnsäure.

$C_5 H_4 N_4 O_3$.



Die Formel der Harnsäure ist von Medicus aufgestellt, daraufsynthetisch zuerst von Horbaczewski, dann von Behrend und Roosen, sowie von E. Fischer und Ach, analytisch von E. Fischer begründet worden. Vergl. hierzu Xanthinbasen § 34. B.

A. *Vorkommen.* Die Harnsäure ist ein constanter Bestandtheil des Harns des Menschen und höchst wahrscheinlich auch der Pflanzenfresser; sie findet sich auch häufig im Harn der Fleischfresser. Im Harn der Vögel, der Schlangen und anderer beschuppter Amphibien, bildet sie den wesentlichen der organischen Bestandtheile; im unzersetzten Harn der Vögel und Schlangen ist sie als Tetraurat enthalten (Roberts[1]).

Auch im Harn der Insecten und einiger Schneckenarten ist die Harnsäure nachgewiesen worden.

Im Harn des Elephanten hat Horbaczewski[2]), im Harn der Schweine haben Meissl und Strohmer, Salomon (1 Harnsäure auf 150 Harnstoff), sowie Mittelbach[3]) Harnsäure nachgewiesen. — Nachdem Brand im Kameelharn, Sussdorf, sowie Feser und Friedberger[4]) im Harn an Laryngo-Bronchitis, Feser im Harn an Rothlauf, acuter Lungenentzündung leidender Pferde, Leconte in dem hungernder Pferde und Brücke in drei Kuhharnen Harnsäure aufgefunden hatten, wurde sie von Meissner und Shepard gleichfalls im Kuhharn, ferner im Harn von Ziegen, sowie sehr oft im Harn von Kaninchen nachgewiesen und auch im Pferdeharn nicht vermisst. Auch Salkowski hat sie im Pferdeharn angetroffen. Mittelbach[5]) fand sie in allen von ihm untersuchten Pflanzenfresserharnen (30 Rinder-, 5 Pferde-, 7 Schöpsharne). Im Harn saugender Kälber kommt sie in nicht unbedeutender Menge vor (Wöhler). — Der Harn der Fleischfresser enthält nicht immer Harnsäure; im

---

1) Sir W. Roberts, On the chemistry and therapeutics of uric acid gravel and gout. (Croonian lecture for 1892). London, Smith, Elder & Co. 1892. 9.

2) J. Horbaczewski, Monatsh. f. Ch. **12**. 272. 1891.

3) E. Meissl u. F. Strohmer, Monatshefte f. Ch. **4**. 810. 1883. — G. Salomon, Du Bois' Archiv **8**. 175. 1884; Virchow's Archiv **95**. 527. — F. Mittelbach, Ztschr. f. physiol. Ch. **12**. 465. 1888.

4) Brand bei Meissner, Ztschr. f. rat. Med. [3]. **31**. 344. — Sussdorf, Bericht über das Veterinärwesen im Kgr. Sachsen für 1859. 108. — Feser und Friedberger, Ztschr. f. prkt. Veterinärwissensch. **2**. 8. 1874; Jahresb. f. Thierchemie 1874. 228. — Feser, Jahresbericht d. Thierarzneischule zu München 1860. 52; Canstatt's Jahresb. 1860. **6**. 5.

5) Leconte bei Bernard, Leç. sur les liquides de l'organisme. **2**. 59. — Brücke, Müller's Archiv 1842. 91; Journ. f. prakt. Ch. **25**. 254. — G. Meissner u. C. U. Shepard, Unters. über das Entstehen der Hippurs. im Thier-Organismus 1866. 81. — Salkowski, Ztschr. f. physiol. Ch. **9**. 241. — Mittelbach. a. a. O.

Harn von Hunden und Katzen wurde sie wiederholt vermisst. Nach Meissner[1]) tritt sie hier regelmässig nur bei animalischer Kost und im Hunger auf und verschwindet bei eiweissarmer Nahrung. Stadthagen[2]) fand im Harn mit Fleisch gefütterter Hunde auf 280 und 800 Thle. Harnstoff 1 Thl. Harnsäure. — Im Harn des Hundshays (Scyllium catulus) hat sie Herter, im Harn des Karpfens Rywosch[3]) vermisst. — Im frischen Peruguano finden sich nach Löwe[4]) 14—20 % Harnsäure.

Vom gesunden erwachsenen Menschen werden in 24 Stunden 0,2 bis 1,25 g Harnsäure auf 30—35 g Harnstoff, oder mit der Harnsäure 1—2 % des Gesammtstickstoffs ausgeschieden; ihre Menge scheint individuell verschieden zu sein Mit der Zersetzung der Eiweisskörper im Organismus (bei gesteigerter Eiweisszufuhr, im Fieber etc.) nimmt die Ausscheidung zu, und zwar nahezu in demselben Verhältniss, wie die des Harnstoffs. Ueber dieses Verhältniss hinaus erscheint die Harnsäure im Harn bei der Zersetzung von Nucleïn oder von zellenreichem Gewebe; in der Leukämie ist die Harnsäure oft, aber nicht immer, absolut und im Verhältniss zum Harnstoff vermehrt. Gleich nach der Geburt und in den ersten Lebenstagen scheiden die Kinder relativ viel Harnsäure aus.

Horbaczewski[5]) bezieht die Bildung der Harnsäure auf den Zerfall nucleïnhaltiger Gewebe, namentlich der Leukocyten. Die Menge der ausgeschiedenen Harnsäure steigt, wenn die Zahl der Leukocyten im Blute zunimmt und daher rührt nach Horbaczewski die grössere Harnsäuremenge bei Kindern, namentlich bei Neugeborenen, die geringere im Hunger und die grössere nach Aufnahme von Fleischnahrung. Fehlt die Verdauungsleukocytose, so wird auch die Harnsäure nicht in vermehrter Menge ausgeschieden. Gifte, welche die Leukocyten vermehren (Pilocarpin) oder vermindern (Chinin, Atropin), wirken in demselben Sinne auf die Ausscheidung der Harnsäure. Zustände mit Zerfall von nucleïnhaltigem Gewebe (Leukämie, Phosphorvergiftung, acute fieberhafte Erkrankungen, insbesondere Pneumonie, Cachexien, Lebercirrhose, Verbrennungen und Verbrühungen der Haut, perniciöse Anämie, Inanition) gehen mit vermehrter Harnsäureausscheidung einher.

Nach der von Dapper[6]) gegebenen Zusammenstellung zahlreicher Bestimmungen, welche mittelst neuerer Methoden ausgeführt worden sind, beträgt die tägliche Harnsäuremenge 0,8 g und schwankt in den Mittelzahlen zwischen 0,39 und 1,28 g. Während das Maximum der Stickstoffausscheidung ungefähr in der 9. Stunde nach einer starken Mahlzeit erreicht wird, tritt das der Harnsäureausscheidung nach Mareš bereits ungefähr in der 5. Stunde ein; zwischen der 13. und 24.—27. Stunde nach der Mahlzeit liefern die einzelnen Individuen bei sehr verschiedenen Mengen des Gesammtstickstoffs nahezu constante Mengen Harnsäure, verschiedene Individuen aber verschiedene Mengen (0,18—0,36 g), womit die Erfahrungen von Hopkins übereinstimmen. — Bei stickstoffarmer Nahrung wird im Verhältniss zum Gesammtstickstoff mehr Harnsäure ausge-

---

1) G. Meissner, Ztschr. f. rat. Med. [3] **24**. 104; **31**. 306.

2) Stadthagen, Virchow's Archiv **109**. 418. 1887.

3) E. Herter, Mittheilungen aus der zoolog. Station zu Neapel **10**. 341; Jahresb. f. Thierch. 1891. 309. — D. Rywosch, Wiener med. Wochenschr. 47. 48. 1893.

4) J. Löwe, Journ. f. prakt. Chem. **96**. 409.

5) Horbaczewski, Monatsh. f. Ch. **12**. 232. 1891.

6) C. Dapper, Berl. klin. Wochenschr. 1893. 622.

schieden, als bei stickstoffreicher und bei Milch (Bleibtreu und Schultze, Camerer, Weintraud, Baftalowskij[1]).

Den Einfluss der Verfütterung von Nucleïn auf die Harnsäureausscheidung beim Menschen hat zuerst Horbaczewski nachgewiesen, Richter für die Nucleïnsäure und Weintraud sowie Mayer[2]) für zellenreiches Gewebe (Thymus) bestätigt. Horbaczewski sah u. A. die 2 stündige Harnsäuremenge bei einem Mann, der 18 Stunden gehungert hatte, nach Verabreichung von 5,5 g Nucleïn von 47 mg auf 65 u. 94 mg steigen, den Harnsäurestickstoff von 1,49 % des Gesammtstickstoffes auf 2,13 und 2,85 %. In den Versuchen von Weintraud betrug die tägliche Harnsäuremenge bei gemischter oder Fleischkost im Mittel 1,1 g, als statt des Fleisches täglich 0,75—1 Ko. Kalbsthymus verzehrt wurde, im Mittel 1,9 g, im Maximum 2,4 g; in Procenten des gesammten Harnstickstoffs machte der Harnsäurestickstoff bei gemischter Kost 2,15, bei Fleischkost 1,73 und bei Thymus 2,91 aus.

Nach Ausschaltung der Leber aus dem Blutkreislaufe beim Hunde durch Anlegung einer Eck'schen Fistel fanden Hahn und Nencki die Menge der Harnsäure gegenüber der des Harnstoffs erheblich vermehrt und Aehnliches beobachtete Lieblein nach Verödung der Leber beim Hunde durch Einspritzung verdünnter Schwefelsäure in den Gallengang. Bei Vögeln (Gänsen) verschwindet nach Exstirpation der Leber die Harnsäure aus dem Harn fast vollständig, dagegen (bei Enten) nicht nach Unterbindung nur eines Theiles der Lebergefässe oder bei nur theilweiser Exstirpation der Leber (Minkowski[3]).

Bei Lebercarcinom fand Pott bei einer täglichen Ausscheidung von 8,6 und 11,1 g Stickstoff im Harn im Mittel 0,93 g Harnsäure; an den Tagen, an welchen Gesammtstickstoff und Harnsäure zugleich bestimmt wurden, betrug der Stickstoff der Harnsäure 2,83 % des gesammten; Horbaczewski bestimmte in einem Fall von beginnendem Lebercarcinom mit starker Abmagerung in der Tagesmenge Harn 0,9 bis 1,5 g Harnsäure. Im Anfangsstadium der Lebercirrhose fand Baftalowskij 0,9—1,2 g in der Tagesmenge Harn, im Stadium der Atrophie 0,41—0,47 g — Bei einer Verbrühung der Haut sah Horbaczewski[4]) die tägliche Harnsäuremenge auf 1,87 g (bei 15,57 g Gesammtstickstoff) steigen. Als eine Maximalzahl der täglichen Harnsäureausscheidung bei Leukämie beobachtete Schultzen bis zu 5 g.

In den ersten Lebenstagen scheiden die Kinder mit der Harnsäure nach Mareš und nach Sjöqvist 7—8 % des gesammten Harnstickstoffs aus; nach der Zeit des Niereninfarcts sinkt sie auf 3 % (Sjöqvist). Auch nach Flensburg ist der Harn der Neugeborenen reich an Harnsäure. Bei 4—8 jährigen Kindern beträgt die tägliche Harnsäuremenge nach Baginsky und Sommerfeld 0,2—0,3 g, bei 3—11½ jährigen nach Bödtker[5]) 0,06—0,52 g.

---

1) Fr. Mares, Arch. slaves de biologie **3**. 207; Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1888. 2. — F. G. Hopkins, Guy's Hospit. Reports **50**. 369. 1894. — L. Bleibtreu und E. Schultze, Pfüger's Archiv **45**. 401 1889. — Camerer, Ztschr. f. Biologie **28**. 72. 1891. — W. Weintraud, Berliner klin. Wochenschr. 1895. 405. — E. D. Baftalowskij, Wratsch 1888; Jahresb. f. Thierch. 1888. 130.

2) J. Horbaczewski, Monatsh. f. Ch. **12**. 234. 1891. — P. Richter, Ztschr. f. klin. Med. **27**. 290. — W. Weintraud, Berl. klin. Wochenschr. 1895. 405; Du Bois' Archiv 1895. 382. — P. Mayer, Deutsche med. Wochenschr. 1896. 186.

3) M. Hahn und M. Nencki, Archives des sc. biologiques **1**. 457. 1892; Archiv f. exper. Pathol. **32**. 189. 1893. — V. Lieblein, daselbst **33**. 335. 1894. — O. Minkowski, daselbst **21**. 41. 1886; **31**. 214. 1893.

4) R. Pott, Pflüger's Archiv **46**. 509. 1890. — Horbaczewski, a. a. O. 258. — Baftalowskij, a. a. O.

5) Mares, a. a. O. — J. Sjöqvist Nordisk med. Arkiv 1894; Jahresb. f. Thierch. 1893. 245. — C. Flensburg, Nordisk med. Arkiv 1894; Jahresb. f. Thierch. 1893. 581. — A. Baginsky und P. Sommerfeld, Ztschr. f. physiol. Chemie **21**. 412. 1896. — Eyvind Bödtker, Beitrag zur Kenntniss des Eiweissabbaus, Bergen 1896.

Zu den Giften, welche eine Vermehrung der Harnsäureausscheidung bewirken, gehört nach Bohland[1]) das salicylsaure Natron.

B. Eigenschaften.

Die Beschreibung der Eigenschaften betrifft vorwiegend die reine Harnsäure. Das Verhalten der Harnsäure im Harn ist bei den Sedimenten angeführt.

Nach ihren chemischen Eigenschaften gehört die Harnsäure zur Gruppe der Xanthinbasen; der besseren Uebersicht wegen wird die Harnsäure für sich abgehandelt.

1. Die reine Harnsäure bildet ein weisses, leichtes, sich zart anfühlendes Pulver, welches aus mikroskopischen, rhombischen, durchsichtigen Täfelchen besteht.

Ganz reine Harnsäure kann nach Behrend und Roosen[2]) auch in rechtwinkligen Täfelchen krystallisiren. An der unreinen Harnsäure, wie sie sich aus Harn abscheidet, sind die stumpfen Winkel der rhombischen Täfelchen abgerundet, so dass die Krystalle die Gestalt von kurzen, dicken Wetzsteinen annehmen (Taf. II. Fig. 2); auf den gekrümmten Seiten liegende Krystalle erscheinen als rechtwicklige Prismen. Oefter sind zwei solcher Krystalle unter rechtem Winkel durchwachsen oder lagern sich mehrere in gleicher Weise mit ihren breitesten Partien rosettenartig übereinander. Nicht selten legen sich solche wetzsteinförmige Krystalle mit ihren planen Seiten in der Weise aneinander, dass sich in der Mitte der Reihe der grösste Krystall befindet, während sich nach den Seiten immer kleinere anfügen, so dass das Aggregat einer Tonne nicht unähnlich erscheint. Es kommt auch vor, dass Harnsäurekrystalle sehr lang gestreckt, den Krystallen der Hippursäure einigermaassen ähnlich sind; sie weisen dann aber meist keine scharfe Begrenzung auf. Aus zuckerhaltigem Harn scheidet sich die Harnsäure nach Venables oft in langen, sechsseitigen Täfelchen aus.

In der Kälte aus alkalischer Lösung durch Salzsäure gefällte Harnsäure enthält nach Fritzsche stets 2 Mol. Krystallwasser, welches die Krystalle schon in geringer Wärme, im Vacuum oder in heissem Wasser abgeben. Der Niederschlag bildet anfangs eine Gallert, und auch diese ist nach Matignon[3]) ein Hydrat.

2. Die reine Harnsäure löst sich in Wasser äusserst schwer, nämlich in ungefähr 16 000 Theilen Wasser von Zimmertemperatur und in 1600 Theilen kochendem Wasser; unreine, aus Harn gefällte Harnsäure scheint sich in Wasser leichter zu lösen als reine. Ihre kalten Lösungen röthen Lackmus nicht. Aus verdünnten wässerigen Lösungen scheidet sich die Harnsäure nur langsam ab. In Alkohol und in Aether ist die Harnsäure unlöslich, dagegen löst sie sich nach Colasanti[4]) gut in warmem Glycerin und setzt sich beim Stehen der Lösung theilweise wieder in würfligen Krystallen ab. In Salzsäure löst sie sich nicht unbeträchtlich (Rüdel) und bei Wasserbadwärme in concentrirter Schwefelsäure ziemlich leicht. Sie löst sich in Alkali-

---

1) K. Bohland, Centralbl. f. innere Med. **17**. 70. 1896.
2) R. Behrend und O. Roosen, Ann. d. Chem. **251**. 250. 1889.
3) J. Fritzsche, Journ. f. prakt. Ch. **17**. 56. 1839. — E. Matignon, Bull. de la Soc. chim. [3] **11**. 571. 1894.
4) G. Colosanti, Moleschott's Unters. **13**.; Ztschr. f. anal. Chem. **22**. 625.

hydraten, kohlensauren, phosphorsauren, milchsauren und essigsauren Alkalien sowie in Borax, mit den Basen Salze bildend, in Harnstofflösungen leichter, als in Wasser (Rüdel). Die Löslichkeit der Harnsäure in Alkali- oder Erdalkalicarbonaten ist bei hinlänglicher Verdünnung der Salzlösung dem Gehalt der Lösung an Carbonat direkt proportional (Jahns[1]). Eine warm bereitete Lösung von Harnsäure in überschüssigem einfach sauren Natronphosphat reagirt von entstandenem zweifach sauren Phosphat amphoter.

Die Löslichkeitscurve der Harnsäure in Wasser wird nach Blarez und Denigès[2]) ausgedrückt durch:

$$x = 2 + 0{,}15\,t + 0{,}0\,020\,t^2 + 0{,}000\,025\,t^3,$$

worin x = mg Harnsäure in 100 g Wasser und t = die jeweilige Temperatur; bei 0^0 lösen sich 2 mg in 100 g Wasser, bei 20^0 6 mg, bei 100^0 62,5 mg.

Eine Lösung mit mehr als 0,5 g Urat im Liter giebt nach Blarez und Denigès[3]) mit Säure schnell einen Niederschlag, verdünntere Lösungen langsam.

In schwefelsäurehaltigem Wasser löst sich nach Horbaczewski die Harnsäure nicht in grösserer Menge, als in reinem, wenig mehr in Lösungen von schwefelsaurem Xanthin. Eine 2—3 proc. Schwefelsäure löst nur sehr geringe Mengen Harnsäure (Salkowski). In Salzsäure löst sie sich nicht unbeträchtlich (Rüdel[4]).

Einige organische Basen bilden mit der Harnsäure leicht lösliche Salze und besitzen daher ein grosses Lösungsvermögen für die Harnsäure. Nach Rüdel[4]) löst sich 1 g Harnsäure in 1890 cc 2 proc. Harnstofflösung. — Piperazin (Diäthylendiamin) HN $(C_2H_4)_2$ NH, welches selbst mit einem grösseren Ueberschuss an Harnsäure immer das neutrale Salz $C_4H_{10}N_2 . C_5H_4N_4O_3$ bildet, löst nach Majert und Schmidt die Harnsäure sehr leicht und schon in der Kälte; 1 Theil des Salzes löst sich bei 17^0 in ungefähr 50 Theilen Wasser. Nach v. d. Klip löst Piperazin bei $16-36^0$ ungefähr eben soviel Harnsäure, wie kohlensaures Lithion, nach Plugge aber besitzt Piperazin in concentrirter Lösung für Harnsäure ein grösseres Lösungsvermögen als Lithioncarbonat, in grosser Verdünnung dagegen ein geringeres. In einer 10 proc. Piperazinlösung ist harnsaures Piperazin nicht unlöslich (Salkowski). Wie Meisels angiebt, übt ein Harn mit 2 % und mehr Piperazin auf Harnsäure und Uratconcremente keine lösende Wirkung aus. — Auch das weinsaure Dimethylpiperazin (Lycetol) wird von Wittzack als ein Harnsäure lösendes Mittel bezeichnet. — Das harnsaure Methylglyoxalidin (Lysidin) $C_4H_8N_2 . C_5H_4N_4O_3$ löst sich nach Ladenburg[5]) schon in 6 Theilen Wasser.

---

1) Jahns, Archiv d. Pharm. **221**. 511.

2) Blarez u. Denigès, Comptes rendus **104**. 1847. 1887.

3) Blarez u. Denigès, a. a. O. **104**. 789.

4) Horbaczewski, Ztschr. f. physiol. Ch. **18**. 347. 1893. — Salkowski, Virchow's Archiv **50**. 193. 1870; Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1894. 515. — G. Rüdel, Arch. f. exper. Pathol. **30**. 469. 1892.

5) W. Majert u. A. Schmidt, Ber. d. chem. Gesellsch. **23**. 3722. 1890. R. v. d. Klip, Tijdschr. v. Geneesk, 1892. **1**. 445; Jahresb.. f. Thierch. 1892. 531. — P. C. Plugge, Niederl. Tijdschr. voor Pharmazie **6**. 355. 1894; Ch. Centralbl. 1895. **1**. 293. — Salkowski, Pflüger's Archiv **56**. 349. 1894. — W. A. Meisels, Ungar. Arch. f. Med. **1**. 364; Jahresb. f. Thierch, 1893. 582. — H. Wittzack, Allgem. med. Centralztg. **7**. 1894; Jahresb. f. Thierch. 1894. 634. — A. Ladenburg, Ber. d. chem. Gesellsch. **27**. 2952. 1894.

3. Urate. Die Harnsäure bildet mit Metallen drei Reihen von Salzen, neutrale von der allgemeinen Formel $C_5H_2M_2N_4O_3$, einfach saure Salze (Biurate) $C_5H_3MN_4O_3$ und dreifach saure Salze (Quadriurate, Tetraurate) $C_5H_3MN_4O_3$, $C_5H_4N_4O_3$.

a. Die neutralen Salze können zwei verschiedene Basen zugleich enthalten. Die der Alkalien sind sehr unbeständig, zersetzen sich leicht schon durch die Kohlensäure der Luft und bestehen in alkalischer Lösung nur in Abwesenheit von Carbonaten (Allan u. Bensch[1]); sie kommen in der Natur nicht vor.

b. Die einfach sauren Urate der fixen Alkalien erhält man durch Behandeln einer Lösung von Harnsäure in den Alkalihydraten mit Kohlensäure (Bensch) oder durch Auflösen von Harnsäure in einem Alkalicarbonat oder Alkalibicarbonat (auch einfach saurem Phosphat, Roberts). Sie entstehen nach Roberts auch bei der Behandlung des Quadriurats mit Wasser. Die Biurate der alkalischen Erden und der schweren Metalle werden erhalten durch Umsetzung der entsprechenden Salze mit Lösungen von Alkalibiurat (Bensch[2]).

Die Biurate treten in zweierlei Formen auf, in der einer unbeständigen Gallert (als Hydrat, hydratische Form) und krystallisirt.

Aus der Lösung von Harnsäure in Alkalihydrat scheidet sich die Harnsäure beim Behandeln der Lösung mit Kohlensäure zunächst als Gallert ab, welche sich darauf in Drusen kleinerer Krystalle verwandelt (Bensch). Eine heiss gesättigte Lösung eines Alkalibiurats bleibt nach dem Erkalten lange Zeit klar; auf Zusatz des gleichen Volumens einer starken Alkalisalzlösung (20 proc. Chlornatrium, Natriumphosphat etc.) entsteht ein voluminöser, gallertiger Niederschlag, welcher später krystallinisch wird (Ord, Roberts). Behandelt man Quadriurat mit Wasser, so enthält die Lösung Biurat, welches sich durch Lösen von Kochsalz in der Lösung bis zur Sättigung gleichfalls als Gallert abscheidet. Auch ohne Fällungsmittel kann sich das Alkalibiurat aus gesättigten Lösungen allmählich gelatinös abscheiden (Roberts[3]); eine heiss gesättigte Lösung von Harnsäure in Lithiumcarbonat erstarrt beim Erkalten zu einer Gallert (Bensch). Das gelatinöse Biurat stellt sich unter einem Mikroskop entweder als amorphe Masse dar, oder in der Form weicher amorpher Kugeln. Es ist leichter löslich als das krystallisirte Biurat.

Das krystallisirte Alkalibiurat (auch das Ammonbiurat) bildet entweder Kugeln, kleine Krystalle, oder lockere, aus Prismen zusammengesetzte Drusen. Seine Lösungen reagiren neutral (Bensch). Das Natriumbiurat krystallisirt aus heissem Wasser in feinen Nädelchen mit $^1/_2$ Mol. H_2O (Behrend u. Roosen) und ist wie das Heteroxanthin- und das Paraxanthin-Natron in concentrirter Natronlauge unlöslich (Salkowski). Die aus alkalischer Lösung in Form von Kugeln (Sphärolithen) ausgeschiedenen Urate, auch die des Ammonbiurats, weisen nach Ebstein u. Nicolaier[4]) unter dem Polarisationsmikroskop ein schwarzes

---

1) Allan und Bensch, Ann. d. Ch. u. Pharm. 65. 181. 1848.

2) Bensch, Ann. d. Ch. u. Pharm. 54. 189. 1845.

3) W. M. Ord, On the Influence of Colloids upon Crystalline Form and Cohesion. London 1879. 72. — Sir W. Roberts, a. a. O. 90 u. 117.

4) R. Behrend u. O. Roosen, Ann. d. Ch. 251. 252. 1889. — Salkowski, Pflüger's Arch. 56. 349. 1894. — W. Ebstein u. A. Nicolaier, Virchow's Archiv 123. 373. 1891.

Kreuz auf, wie nach Roberts die Kugeln der Quadriurate. Die Kugeln lassen sich mit organischen Farbstoffen (Boraxcarmin, alkoholisch-alkalische Methylenblaulösung, Bismarckbraun) färben.

Ueber die Löslichkeitsverhältnisse der Salze giebt folgende Tabelle nach den Untersuchungen von Allan und Bensch (Lithionsalz nach v. Schilling[1]) Auskunft.

Es löst sich 1 Theil neutrales (n) oder saures (s) Salz in

	Li	K		Na		H_4N	Ca		Mg	Sr		Ba
	s	n	s	n	s	s	n	s	s	n	s	n
kalt . . .	370	44	790	77	1150	1600	1500	603	3750	4300	5300	7900
kochend .	39	35	75	—	122	—	1440	276	160	1790	2300	2700

Theilen Wasser.

Das neutrale Kali- und Natronsalz zersetzt sich mit Wasser in saures Salz und Alkalihydrat; das neutrale Kalisalz löst sich sehr schwer in Alkohol, das saure ist in Alkohol unlöslich; das neutrale Natronsalz ist in concentrirter Natronlauge sehr schwer löslich (Salkowski). Ein neutrales Ammonsalz in fester Form ist nicht bekannt; das saure Ammonsalz löst sich leichter in heisser Kochsalzlösung als in Wasser. Eine Lösung von 1 Theil kohlensaurem Lithion in 90 Theilen siedendem Wasser löst nach Lipowitz 4 Theile Harnsäure. Das saure Baryumsalz ist unlöslich. Das saure Kalksalz löst sich viel leichter in Chlorkaliumlösung, als in Wasser. Beide Bleisalze sind unlöslich. Neutrale harnsaure Salze geben selbst in grosser Verdünnung mit Quecksilberchlorid sogleich einen weissen Niederschlag, wie das Xanthin (Dürr). In Natriumsalzen löst sich das Natriumbiurat nach Roberts[2]) um so weniger, je concentrirter die Salzlösungen sind; saures Natriumcarbonat und einfach saures Natriumphosphat lösen nicht mehr als die Neutralsalze des Natriums. Kaliumsalze in 0,1—1 proc. Lösung lösen nicht mehr und nicht weniger Biurat als Wasser. Calcium-, Magnesium-, Ammoniumsalze in 0,1—0,5 proc. Lösung vermindern die Löslichkeit um so mehr, je concentrirter die Salzlösung ist.

c. Von den neutralen und sauren harnsauren Salzen sind noch folgende von besonderer Bedeutung:

α. Harnsaures Alkali wird durch Chlorammon gefällt (Liebig und Wöhler), und zwar als saures Ammonurat. Dieses Salz bildet sich immer, wenn Harnsäure in alkalischer Lösung (in Alkalihydrat, einfach saurem Phosphat) und ein Ammonsalz auf einander treffen. Es ist nach Hopkins in gesättigter Chlorammonlösung völlig unlöslich, löst sich nach Fokker auch nicht in Harnstofflösung, aber in verdünntem Harn. Ammoniak (Schultens) sowie Ammonsalze (Wetzlar) fällen die Harnsäure aus Harn in einigen Stunden so vollständig, dass eine Säure darauf keinen Niederschlag mehr giebt; dagegen scheidet sich aus Harn, aus welchem die Harnsäure mit Salzsäure gefällt ist, auf Zusatz von Ammoniak noch Harnsäure ab (Schwanert). Sättigt man Harn mit Chlorammon, so fällt alle Harnsäure binnen 2 St. als saures Urat aus (Hopkins). Diese Ausscheidung erfolgt auch beim Sättigen des Harns mit Ammonsulphat,

---

1) J. Allan u. A. Bensch, Ann. d. Ch. u. Pharm. **65**. 194. 1848. — v. Schilling, Ann. d. Ch. u. Pharm. **122**. 241.

2) Lipowitz, Ann. d. Ch. u. Pharm. **38**. 348. — E. Dürr, Ann. d. Ch. u. Pharm. **134**. 51. — Sir Roberts, a. a. O. 78.

der Niederschlag tritt aber langsam auf und ist erst nach einigen Tagen vollständig; dieser Niederschlag ist ziegelroth und amorph (Edmunds[1]).

β. Eine verdünnte schwach ammoniakalische Harnsäurelösung (mit neutralem Urat) bleibt auf Zusatz einer ammoniakalischen Silberlösung klar; fügt man der Mischung aber ein Neutralsalz oder eine ammoniakalische Magnesialösung in Salmiak hinzu, so entsteht sofort ein leichter grossflockiger oder gelatinöser Niederschlag (ein Salz der Harnsäure mit Silber und der zweiten als Salz zugesetzten Basis), der sich nach einiger Zeit absetzt, schmutzig weiss oder gelblich erscheint und fast alle Harnsäure enthält (Maly). Nach Schröder lässt sich noch 1 mg Harnsäure aus 200 cc Wasser als Silber-Magnesia-Salz abscheiden. — Pepton und Propepton beeinträchtigen nach Stadthagen diese Fällung der Harnsäure nicht. — Fällt man Harnsäure in Gegenwart von Magnesiasalz mit ammoniakalischer Silberlösung, so enthält der Niederschlag auf 1 Mol. Harnsäure 1 At. Silber (Haycraft, Herrmann, Czapek[2]).

γ. Wie die Xanthinbasen giebt auch die Harnsäure mit Kupferoxydul eine so gut wie unlösliche Verbindung. Sie entsteht als weisser feiner, an der Luft grünlich werdender Niederschlag beim Kochen von Harnsäure mit Fehling-scher Lösung (dieser § 5. f) wobei das Kupferoxyd durch die Harnsäure selbst zu Oxydul reducirt wird, oder wenn Harnsäure in alkalischer Lösung mit einer Kupferoxydullösung in anderer Weise zusammentrifft. (Reduction der Fehling-schen Lösung durch Traubenzucker, durch Hydroxylaminsalz, Balke, oder von Kupfersulphat durch Bisulphit, Krüger). In der Wärme entsteht der Niederschlag sofort. Mit Kupfersulphat und Natriumhyposulphit giebt dagegen eine Harnsäurelösung nach Krüger[3]) weder in der Kälte noch in der Wärme einen Niederschlag; die Bildung von harnsaurem Kupferoxydul in Fehling'scher Lösung wird durch Thiosulphat etwas beschleunigt, durch Bisulphit dagegen sofort hervorgerufen.

Nach Balke kommt der Verbindung die Zusammensetzung $C_5H_4N_4O_3 . Cu_2O$ zu. Sie löst sich nach Krüger[4]) erst in 360000 Theilen Wasser. Alkalihydrate zersetzen sie nicht, aber in Thiosulphat ist sie nach Krüger löslich. Schwefelalkalien zerlegen sie unter Bildung des der Basis entsprechenden Urats.

δ. Lösungen von Harnsäure (als Natronsalz) in Harnstofflösungen von 6% und darüber scheiden nach Rüdel[5]) auf Zusatz von Säure keine Harnsäure ab, sondern eine Verbindung von Harnsäure mit Harnstoff als flockigen, sich gut absetzenden und sich erst bei 70—80° wieder lösenden Niederschlag. Säuert man diese alkalische Lösung an, so besteht die Verbindung aus $CH_4N_2O . C_5H_4N_4O_3 . H_2O$, neutralisirt man nur, so fällt $2 CH_4N_2O . C_5H_4N_4O . 4 H_2O$ aus. Für die Bildung des sauren Salzes muss die Lösung mindestens 6% Harnstoff enthalten, für die des neutralen Salzes ist eine 10 proc. Harnstofflösung er-

---

1) Liebig u. Wöhler, Ann. d. Ch. u. Pharm. **26**. 342. 1838. — F. Gowland Hopkins, Proceedings of the roy. Soc. **52**. 93. 1893; Journ. of Pathology and Bacteriology June 1893; Chem. Centralbl. 192. **2**. 8269. — Fokker, Pflüger's Archiv **10**. 155 u. 161. — A. Edmunds, Journ. of Physiol. **17**. 452. 1895. — Schultens, Gehlen's Neues Journ. d. Chem. **3**. 347. 1804. — G. Wetzlar, Beiträge zur Kenntniss des menschlichen Harns, Frankfurt a. M. 1821. 19.

2) Maly, Pflüger's Archiv **6**. 203. — v. Schröder, Beiträge zur Physiologie. C. Ludwig gewidmet 1887. 92. — Stadthagen, Virchow's Archiv **109**. 398. — J. B. Haycraft, Ztschr. f. anal. Ch. **25**. 168. — Aug. Herrmann, Ztschr. f. physiol. Ch. **12**. 500. — F. Czapek, daselbst 508.

3) P. Balke, Journ. f. prakt. Ch. [2] **47**. 546. — M. Krüger, Ztschr. f. physiol. Ch. **18**. 354.

4) Krüger, a. a. O. **20**. 170. u. a. a. O.

5) G. Rüdel, Arch. f. exper. Pathol. **30**. 473. 1892.

forderlich. Beide Verbindungen sind weiss, flockig, ballen sich zu Fetzen und Häuten zusammen, zeigen unter dem Mikroskop Andeutungen von Kugeln und Cylindern und bilden auf dem Filter ein mattglänzendes Häutchen. Wasser und Alkohol zersetzt die Verbindungen, Alkalien lösen sie leicht, verdünnte Salzsäure verändert sie nicht, verdünnte Salpetersäure scheidet salpetersauren Harnstoff ab, concentrirte Salpetersäure zerlegt sie unter Gasentwicklung.

e. Das dreifach saure Urat ist von Scherer im Uratsediment aufgefunden und darauf von Bence Jones sowie von Roberts näher untersucht worden. Nach Roberts bilden die Quadriurate gewöhnlich ein amorphes Pulver; scheiden sie sich in gelatinöser Form ab, so erscheinen sie unter dem Mikroskop in Form durchscheinender Kugeln, etwa von der Grösse der farblosen Blutkörperchen, welche nach einiger Zeit eine radiäre Streifung annehmen und im polarisirten Licht ein schwarzes Kreuz zeigen wie die Kugeln der Biurate. In dieser Gestalt treten die Tetraurate im frischen Schlangen- und Vogelkoth auf und nach Flensburg im Harnsäureinfarkt der Neugeborenen. Sie sind unlöslich in absolutem Alkohol, in Glycerin und in Chloroform, lösen sich vollständig in heissem Wasser, zerfallen aber alsbald in Harnsäure und Biurat. Dieselbe Zersetzung erleiden sie auch in Berührung mit kaltem Wasser und mit wässrigen Neutralsalzlösungen. In schwachen Lösungen von Alkalicarbonat oder einfach saurem Phosphat nehmen sie langsam 1 At. Metall auf und werden zu Biurat. Auch in Alkaliacetat löst sich das Quadriurat. Der heissen wässrigen Lösung (Uratsediment, Schlangenexcrementen) entzieht nach Garrod[1]) Amylalkohol etwas Urat. Das einzige geeignete Lösungsmittel ist normaler Harn. Das Quadriurat ist schwerer löslich als das Biurat.

In saurem Harn lösen sie sich leicht in der Wärme und fallen beim Erkalten wieder unverändert aus; solche Lösungen sind jedoch nicht beständig, nach einiger Zeit beginnt sich Harnsäure abzuscheiden und nach und nach fällt alle Harnsäure aus. Noch leichter löst sich das Quadriurat in heissem alkalischen Harn und bleibt darin unverändert, wenn der Harn nicht in Gährung geräth; stellt man mit solchem Harn eine heiss gesättigte Lösung her, so fällt beim Erkalten ein voluminöser Niederschlag vom Ansehen und den Reactionen der natürlichen amorphen Uratsadimente.

Das Kalium- und das Natriumquadriurat lassen sich nach Roberts[2]) darstellen, wenn man eine Acetatlösung der betreffenden Basis (300 cc 3 proc. Kaliumacetat- oder 100 cc einer 5 proc. Natriumacetatlösung) siedend heiss etwa eine Minute lang mit (2 g) Harnsäure schüttelt, heiss filtrirt und das Filtrat abkühlt. Der Niederschlag wird erst mit rectificirtem, dann mit absolutem Alkohol gewaschen und bei Blutwärme getrocknet. Lässt man das Filtrat im Wärmeschrank

---

[1]) Scherer, Canstatt's Jahresber. 1845, physiolog. Ch. 156. — H. Bence Jones, Journ. of the chem. Soc. **15**. 201. 1862; Chem. Centralbl. 1862. 372. Sir W. Roberts, a. a. O. 29 u. 86. — C. Flensburg, Nord. med. Arkiv. 1894; Jahrb. f. Thierch. 1893. 581. — A. E. Garrod, Journ. of Physiology **17**. 349.

[2]) Sir Roberts, a. a. O. 25. u. 17.

oder selbst im Zimmer erkalten, so treten radiär gestreifte Kugeln auf. Das Ammonquadriurat erhält man durch Kochen von 1 g Harnsäure mit 200 cc Wasser, dem 1 cc starke Ammoniakflüssigkeit zugesetzt ist, Abkühlen des Filtrats auf Eis und Einleiten von Kohlensäure bis zur Bildung eines voluminösen Niederschlags. Das Calciumsalz wird erhalten durch Lösen von 0,5 g Harnsäure in kaltem Kalkwasser und vorsichtiges Neutralisiren des Filtrats mit Essigsäure; das Magnesiumsalz durch 10 Minuten langes Digeriren von Harnsäure mit calcinirter Magnesia und Wasser bei Blutwärme. Quadriurat kann man nach Roberts auch darstellen, wenn man Harn mit Natrium- oder Kaliumbicarbonat schwach alkalisch macht oder besser mit 3 % Kaliumacetat versetzt zum Sieden erhitzt, eine Minute lang mit überschüssiger Harnsäure digerirt, heiss filtrirt und das Filtrat abkühlt; war der Harn dabei zu schwach alkalisch, so kann Harnsäure mit ausfallen, war er zu stark alkalisch, Biurat.

Versetzt man eine kalt gesättigte Biuratlösung mit einer starken Lösung von zweifach saurem Phosphat oder mit 1/3 Vol. saurem Harn mittlerer Concentration, so fällt Quadriurat aus (Roberts[1]).

Das Quadriurat bildet wie das Biurat ein gelatinöses Hydrat; sättigt man eine 5 proc. Lösung von einfach saurem Natriumphosphat in der Hitze mit Harnsäure, so scheidet sich aus dem Filtrat beim Erkalten dieses Hydrat amorph oder in weichen durchscheinenden Kugeln ab (Roberts[2]).

Die Zersetzung des Tetraurats durch Wasser lässt sich unter dem Mikroskop beobachten, wenn man das zugesetzte Wasser oft erneuert; es treten zuletzt Harnsäurekrystalle auf. — Löst man Quadriurat in der 1000 fachen Menge heissem Wasser, so fällt beim Erkalten die Hälfte der vorhandenen Harnsäure aus, die andere Hälfte bleibt als Biurat in Lösung (Roberts[3]).

d. Ueber die Verbindung der Urate mit Uroerythrin vgl. dieses (§ 44. C. III. B. 5).

e. Gaube[4]) nimmt das Bestehen von Doppelsalzen der Harnsäure und Phosphorsäure an (Urophosphate), aber ohne ausreichenden Beweis. Pfeiffer[5]) hat den Versuch gemacht, diese Annahme zu stützen.

4. Verbindungen mit Säuren.

a. Harnsäure löst sich ziemlich leicht in warmer concentrirter Schwefelsäure (Wetzlar) und beim Erkalten der Lösung krystallisirt schwefelsaure Harnsäure aus. Das Salz wird durch Wasser wieder in seine Bestandtheile zersetzt (Fritzsche[6]).

b. Versetzt man die Lösung eines reinen harnsauren Salzes mit Salzsäure und darauf, so lange die Flüssigkeit noch klar ist, mit Phosphorwolframsäure, so entsteht sofort ein hellchokoladebrauner feinkörniger Niederschlag. Harnsäurelösung, aus welcher die Harnsäure durch Salzsäure gefällt ist, liefert mit dem Reagens langsam einen noch ganz deutlichen Niederschlag brauner, würfelähnlicher, rhombischer Krystalle. Die Niederschläge geben die Murexidprobe (B. 5. i.). Wird gefällte Harnsäure mit saurer Phosphorwolframsäure geschüttelt, so ver-

---

1) Roberts, a. a. O. 42.
2) Roberts, a. a. O. 92.
3) Roberts, a. a. O. 18.
4) Gaube, C. r. de la Soc. de Biol. [9] 1. 383. 1889 u. 2. 404. 1890.
5) E. Pfeiffer, Berliner klin. Wochenschr. 40. 41. 1894. 915.
6) G. Wetzlar, Beiträge zur Kenntniss des menschlichen Harns 1821. 67. — Fritzsche, Ann. d. Ch. u. Pharm. 28. 332.

wandelt sie sich nach und nach in Aggregate der braunen Krystalle (Huppert). Die Fällung der Harnsäure durch Phosphorwolframsäure ist nach Schöndorff[1]) vollständig.

c. Sehr vollständig wird die Harnsäure (aus Harn) nach Jaffé[2]) neben dem Kreatinin durch Pikrinsäure gefällt; das Filtrat giebt (nach 3. c. β) mit ammoniakalischer Silberlösung nur eine minimale Trübung.

d. Harnsäure giebt nach Kreidl[3]) mit Nessler'schem Reagens einen dem Gewicht der Säure proportionalen Niederschlag.

e. Beim Schütteln mit Benzoylchlorid und Lauge nimmt die Harnsäure, ebensowenig wie die anderen Glieder der Harnsäuregruppe, Benzoyl auf (v. Udránszky und Baumann[4]).

5. Zersetzungen.

a. Wenn man Harnsäure 50 Stunden lang unter Luftabschluss mit Wasser kocht, so entsteht nach Magnier de la Source Dialursäure $C_4H_4N_2O_4$ und Harnstoff (Kohlensäure und Ammoniak). Wird Harnsäure tagelang mit Wasser auf 150^0 erhitzt, so bildet sich nach Wöhler harnsaures Ammon. Aber bei nur vierstündigem Erhitzen von Harnsäure mit einer Lösung der Harnsalze wird nach Cazeneuve u. Hugounenq kein Ammoniak gebildet. Bei vierstündigem Kochen mit Magnesia entwickelt die Harnsäure nach Berthelot und André kein Ammoniak; verreibt man dagegen Harnsäure 2 Stunden lang mit 10 proc. Salzsäure, so liefert das Filtrat beim Destilliren mit Magnesia 1$^0/_0$ des Stickstoffs der Harnsäure als Ammoniak. Eine siedende Lösung von Kaliumurat beginnt sich nach Kreidl[5]) nach 12 Stunden zu zersetzen, auch in einer Stickstoffatmosphäre.

b. Die Harnsäure zersetzt sich auch unter der Einwirkung von Mikroorganismen.

Eine wässerige Lösung von freier Harnsäure hält sich nach Kreidl nur in sterilisirtem Zustand und unter Abschluss der Luftkeime; bei Zutritt solcher zersetzt sie sich aber in einigen Tagen. — Nach Fausto und Leone Sestini hält sich in Wasser suspendirte freie Harnsäure unter freiem Zutritt von Luft monatelang unverändert. Versetzt man die Flüssigkeit aber mit einigen Tropfen faulen Harns, so tritt im Sommer schnell Zersetzung ein. Bacillus (Micrococcus) ureae ist dabei besonders thätig, auch Bacillus fluorescens scheint nicht ohne Einfluss zu sein. Zu einer schnellen Gährung ist eine höhere Temperatur (25^0 und darüber) und Lüftung erforderlich. Die Flüssigkeit nimmt von gebildetem Ammoncarbonat alkalische Reaction an, es scheidet sich Ammonurat ab, zuletzt tritt aber aller Stickstoff der Harnsäure als kohlensaures Ammon auf. Alloxan wurde unter den Zersetzungsprodukten nicht aufgefunden. — Lange vorher hat H. Ranke bereits die Angabe gemacht, dass harnsaures Natron mit Bierhefe zwar bei 17^0 nach 3 Wochen noch keine Spur von Zersetzung zeigt, bei 32^0 aber schon nach einigen Tagen in Zersetzung begriffen ist; in der Flüssigkeit liess sich Oxalsäure und Harnstoff nachweisen, und kohlensaures Ammon verflüchtigte sich in reichlicher Menge.

---

1) B. Schöndorff, Pflüger's Archiv **62**. 29. 1895.

2) M. Jaffé, Ztschr. f. physiol. Ch. **10**. 393. 1886.

3) J. Kreidl, Monatsh. f. Ch. **14**. 109. 1893.

4) L. v. Udránszky u. E. Baumann, Berichte d. chem. Gesellsch. **21**. 2751. 1888.

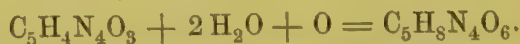
5) Magnier de la Source, Bull. de la Soc. chim. [2] **23**. 483. 1875. — Wöhler, Ann. d. Ch. u. Pharm. **103**. 118. 1857. — Cazeneuve u. Hugounenq, Bull. de la Soc. chim. [2] **48**. 82. — Berthelot u. André, Bull. de la Soc. chim. [2] **47**. 840. — Kreidl, a. a. O. 113.

Sehr wahrscheinlich waren auch hier die die unreine Hefe begleitenden Bacillen das Wirksame. — Gérard[1]) hat ermittelt, dass sich unter den Mikroben (Coccen und Bakterien), welche Harnsäure in Natriumphosphatlösung schon bei gewöhnlicher Temperatur, schneller bei 30—32° zerlegen, solche vorfinden, welche aus der Harnsäure blos den Harnstoff abspalten, andere, welche den Harnstoff in kohlensaures Ammon überführen. Bei der Zersetzung tritt der ganze Stickstoff der Harnsäure als Harnstoff oder Ammoncarbonat auf; in dem stickstofffreien Spaltungsprodukt vermuthet Gérard die Tartronsäure.

c. Durch Natriumamalgam wird die Harnsäure bei Abschluss der Luft nicht verändert (E. Fischer[2]).

d. Beim Erhitzen mit concentrirter (Jodwasserstoffsäure oder) Salzsäure auf 160—170° zerfällt die Harnsäure in Glykokoll, Kohlensäure und Ammoniak (Strecker[3]).

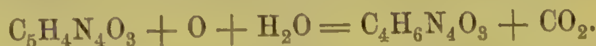
e. Die Harnsäure wird in alkalischer Lösung bei Zutritt von Luft zu Uroxansäure oxydirt (Staedeler[4]):



$$C_5H_4N_4O_3 + 2\,H_2O + O = C_5H_8N_4O_6.$$

Die Zersetzung erfolgt ziemlich schnell; nach Nencki u. Sieber verschwanden 5 g in 200 cc 10 proc. Kalilauge gelöste Harnsäure bei Bluttemperatur in 5 Tagen. Bei sehr kleinen Harnsäuremengen macht sich nach v. Schöder der Verlust an Harnsäure schon in kürzester Zeit bemerkbar. Eine Lösung von Kaliumurat, welche nur einen geringen Ueberschuss von Kaliumhydrat oder etwas Natriumcarbonat enthält, erleidet nach Kreidl schon Zersetzung, die Alkalescenz verschwindet und von da an bleibt die Lösung unverändert; Durchleiten von Luft durch die Flüssigkeit beschleunigt die Zersetzung. Schnell erfolgt die Bildung der Uroxansäure nach Sundwik[5]) beim Behandeln einer alkalischen Harnsäurelösung mit Permanganat in der Kälte.

f. In neutraler oder alkalischer Lösung wird die Harnsäure durch Bleisuperoxyd, Braunstein, Ferricyankalium, Kupferoxyd, Quecksilberoxyd, Ozon, Natrium- und Baryumsuperoxyd (Krüger), durch Permanganat die in Wasser suspendirte Harnsäure (Claus), unter bestimmten Umständen auch durch Jod (Bryk[6]) zu Allantoin oxydirt:



$$C_5H_4N_4O_3 + O + H_2O = C_4H_6N_4O_3 + CO_2.$$

Kocht man eine verdünnte Fehling'sche Lösung nach Zusatz von etwas harnsaurem Alkali, so scheidet sich in Folge der Oxydation der Harnsäure durch das Kupferoxyd rothes Kupferoxydul ab, oder, wenn Harnsäure im Ueberschuss vorhanden war, auch ein weisser Niederschlag von harnsaurem Kupferoxydul (Gairdner, Berlin, Böttger, Babo und Meissner, Béhier, Leconte u. A.). — Kupferoxyd-Ammoniak oxydirt die Harnsäure bei Gegenwart von Kali zu Harnstoff und Oxalsäure. Die ammoniakalische Fehling'sche Lösung wird nach

---

1) J. Kreidl, a. a. O. 111. — F. u. L. Sestini, Landwirthsch. Versuchsstationen 38. 157. 1891. — H. Ranke, Journ. f. prakt. Ch. 56. 15. 1852. — E. Gérard, Comptes rendus 122. 1019; 123. 185. 1896.

2) E. Fischer, Ber. d. chem. Gesellsch. 17. 329. 1884.

3) A. Strecker, Ann. d. Ch. u. Pharm. 146. 142. 1868.

4) Staedeler, Ann. d. Ch. u. Pharm. 78. 286. 1851.

5) Nencki u. Sieber, Journ. f. prakt. Ch. [2] 24. 503. 1881. — v. Schröder, a. a. O. 94. — Kreidl, a. a. O. 114. — E. E. Sundwik, Ztschr. f. physiol. Ch. 20. 335.

6) M. Krüger, Ztschr. f. physiol. Ch. 21. 313. — Claus, Ber. d. chem. Gesellsch. 7. 227. 1874. — E. Bryk, Monatsh. f. Ch. 15. 519. 1894.

Moritz durch 100 g Harnsäure so stark reducirt, wie durch 54,3 g Zucker; das Reductionsvermögen der Harnsäure ist darnach genau halb so gross wie das des Zuckers, oder, da unter diesen Umständen 1 Mol. Zucker durch 6 Mol. Kupferhydrat oxydirt wird, 1 Mol. Harnsäure wird durch 3 Mol. Sauerstoff oxydirt. — Eine Lösung von Wolframsäure in überschüssiger Lauge färbt sich nach Maschke mit Harnsäure grün oder blau und entfärbt sich beim Schütteln mit Luft wieder. Dieselbe Reduction tritt nach Offer[1]) ein bei Verwendung von Phosphormolybdänsäure; einigermaassen concentrirte Harnsäurelösungen scheiden das gebildete molybdänsaure Molybdänoxyd sofort in mikroskopischen tiefblauen sechsseitigen Prismen ab.

Nach Worm-Müller[2]) kann harnsaures Kali bei genügendem Ueberschuss an Kaliumhydrat mehr als 2 Mol. Kupferhydrat in Lösung erhalten; es tritt aber bald der weisse Niederschlag von harnsaurem Kupferoxydul auf, um so schneller, je stärker alkalisch die Lösung ist. In der Siedehitze kann 1 Mol. Harnsäure 2 Mol. Kupferoxyd (aus Fehling'scher Lösung) reduciren. Enthält die Mischung, neben mehr als 0,05 % Harnsäure, blos die Hälfte dieser Kupferoxydmenge oder weniger, so bleibt das gebildete Kupferoxydul in Lösung oder fällt als harnsaures Salz aus; Lösungen mit weniger als 0,05 % Harnsäure geben mit 1—1,5 Mol. $Cu(OH)_2$ auf 1 Mol. Harnsäure am Leichtesten einen Kupferoxydulniederschlag, (weil die überschüssige Harnsäure durch das Alkalihydrat zerstört wird). Das harnsaure Kupferoxydul wird durch Kochen mit Lauge nicht verändert, durch Kochen mit Fehling'scher Flüssigkeit aber in rothes Kupferoxydul übergeführt. Wenn das Kupferhydrat bei Ueberschuss an Alkalihydrat durch die Harnsäure allein gelöst ist, tritt schon in der Kälte Reduction ein; in der Siedehitze erhält man sie in einer solchen Lösung noch bei 0,016 %, mit Fehling'scher Lösung noch bei 0,006 % Harnsäure; bei 60—70°, wo das Kupferhydrat noch durch Zucker reducirt wird, ist die Reaction mit Harnsäure sehr schwach. Ist eine zur vollen Oxydation der Harnsäure nicht genügende Menge Kupferoxyd zugegen, so sind die gebildeten Zersetzungsproducte der Harnsäure im Stande, mehr als die bei der Reaction gebildete Menge Kupferoxydul in Lösung zu erhalten. — Die richtig angestellte Probe zeigt noch 0,35 mg Harnsäure in 5 cc Lösung durch einen deutlichen Kupferoxydulniederschlag an.

Eine Harnsäurelösung, welche überschüssiges Natron oder Kali enthält, reducirt (bei Anwesenheit von Ammonsalz) salpetersaures Silberoxyd sehr leicht. Auch kohlensaures Silber wird durch Harnsäure oder harnsaures Alkali durch Reduction des Silberoxyds sofort geschwärzt (H. Schiff). Nach Mizerski's[3]) Bestimmung scheiden 0,380 g Harnsäure aus ammoniakalischer Silberlösung 1 g metallisches Silber ab, das wäre auf 1 Mol. Harnsäure 4,09 At. Silber.

Beim Kochen von Harnsäure oder harnsaurem Kali mit Eisenchlorid wird das Eisenoxydsalz zu Oxydulsalz reducirt und entstehen Harnstoff und Oxalsäure.

Alkalische Quecksilberoxydlösung (Jodquecksilber-Kalium in Kalilauge) giebt mit einem harnsauren Salz einen weissen, flockigen Niederschlag, der sich beim Kochen, auch in Gegenwart von viel Kalilauge, nicht sichtlich verändert.

Orthonitrophenylpropiolsäure wird durch alkalische Harnsäurelösung nicht in Indigblau übergeführt (Heckenhayn[4]).

---

[1]) F. Moritz, Archiv f. klin. Med. **46**. 242 u. 225. 1890. — O. Maschke, Ztschr. f. anal. Ch. **16**. 425. 1877. — Th. R. Offer, Centralbl. f. Physiol. **8**. 801. 1895.

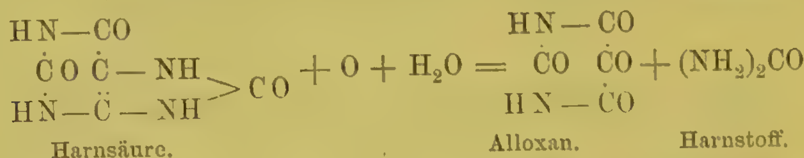
[2]) Worm-Müller, Pflüger's Archiv **27**. 22. 1882.

[3]) H. Schiff, Ann. d. Ch. und Pharm. **109**. 67. — A. Mizerski, Nowiny lekarskie 3. 1893. 121; Jahresb. f. Thierch. 1893. 251.

[4]) Heckenhayn, Ueber das Vorkommen reduc. Subst. im Harn. Diss. Erlangen 1887.

Kreidl[1]) hat ermittelt, wieviel Jod von der Harnsäure in alkalischer Lösung verbraucht wird; die Harnsäure wurde in einem mässigen Ueberschuss von Normalkalilauge gelöst, mit einem ziemlich bedeutenden Ueberschuss von $^1/_{30}$ Normal-Jodlösung versetzt, mit Salzsäure übersättigt und das Jod mit Thiosulphat zurücktitrirt. Wurde sofort zurücktitrirt, so verbrauchte ein Mol. Harnsäure 3,5 At. Jod, nachdem aber das Jod auf die Harnsäure $^3/_4$ St. eingewirkt hatte, nur 2,3 At. Jod.

g. Bei vorsichtiger Oxydation in saurer Lösung (durch kalte concentrirte Salpetersäure, durch Chlor, Brom, Jod, durch Braunstein und Schwefelsäure), zerfällt die Harnsäure zu Alloxan und Harnstoff.



In der Wärme oxydirt sich das Alloxan weiter zu Parabansäure $CO <{HN-CO \atop HN-CO}$ und CO_2; bei der Einwirkung von Alkalien geht die Parabansäure unter Wasseraufnahme in Oxalursäure ${CO-NH.CO.NH_2 \atop COOH}$ über, und diese kann weiter in Oxalsäure und Harnstoff zerfallen.

h. Versetzt man eine Lösung von Harnsäure in verdünnter Schwefelsäure (die mit Schwefelsäure übersättigte Lösung eines Urats) nach und nach mit verdünnter Permanganatlösung, so verschwindet anfangs die Färbung des Permanganats augenblicklich, zuletzt tritt aber ein Punkt ein, bei welchem die Flüssigkeit roth wird, wenn auch nur auf ganz kurze Zeit. Blarez und Denigès[2]) haben ermittelt, dass die Menge Chamäleon, welche von einer bestimmten Menge Harnsäure verbraucht wird, in geringem Grade abhängt von dem Gehalt der Flüssigkeit an Schwefelsäure, wesentlich aber von der Concentration der Harnsäurelösung: dieselbe Menge Harnsäure verbraucht in concentrirter Lösung erheblich mehr Permanganat als in verdünnter. Constant werden die Resultate, wenn nicht mehr als 0,1 g Harnsäure in 800 cc Flüssigkeit gelöst ist; der Gehalt der Mischung an Schwefelsäure soll ungefähr 3,5 g (2 cc concentrirte Schwefelsäure auf 800 cc) betragen. Die Temperatur ist ohne Einfluss auf die Reaction. Unter diesen Bedingungen werden 7,4 mg Harnsäure durch 1 cc $^1/_{10}$ normal Chamäleon zerstört (auf 1 Mol. Harnsäure 1,135 At. Sauerstoff), wobei die für die Endreaction verbrauchte Chamäleonmenge nicht mit gerechnet ist.

Hopkins[3]) löste aus dem Harn gefällte Harnsäure (20—80 mg) in wenig Natriumcarbonat, füllte mit Wasser auf 100 cc auf, setzte 20 cc concentrirte Schwefelsäure zu und titrirte mit Permanganat. Die Titrirung stimmte zu der

1) J. Kreidl, a. a. O. 109.
2) Ch. Blarez u. G. Denigès, Comptes rendus **104**. 789. 1887.
3) F. Gowland Hopkins, Journ. of Pathol. and Bacteriol. June 1893. 451.

Wägung unter der Annahme, dass 1 cc $^1/_{10}$ normal Chamäleon 7,5 mg Harnsäure anzeigt. Bei Versuchen mit reiner Harnsäure habe ich gefunden, dass unter denselben Umständen durch 1 cc der Chamäleonlösung nur 7,22 mg Harnsäure oxydirt werden. Meine Chamäleonlösung war auf Eisen gestellt, Hopkins hat die seine durch Wägung des Permanganats bereitet.

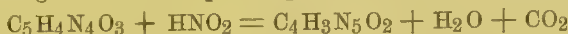
i. Löst man Harnsäure in Salpetersäure oder Chlorwasser in der Wärme, und verdunstet man die Lösung vorsichtig zur Trockne, so bleibt ein rother Rückstand, der dann auf Zusatz von Ammoniak schön purpurroth (purpursaures Ammon, Murexid), durch (nachträglichen) Zusatz von Kali- oder Natronlauge aber schön röthlich blau wird.

Man kann über freiem Feuer abdampfen, schöner fällt die Probe jedoch aus, wenn man im Wasserbade verdunstet, und den Verdampfungsrückstand neben Ammoniak unter eine Glocke stellt. Man verwende nur wenig Harnsäure. — Ist der Abdampfungsrückstand nur citronengelb und nicht roth, so giebt er mit den Alkalien die Färbungen nicht, es hat dann an Salpetersäure gefehlt. Man übergiesst den Rückstand nochmals mit Salpetersäure und dampft wieder zur Trockne ein.

Eine Lösung von purpursaurem Ammon weist nach Krukenberg[1]) einen Absorptionsstreifen zwischen E u. F, eine solche von purpursaurem Natron einen Streifen zwischen D und b auf.

Die Murexidprobe kommt in folgender Weise zu Stande. Bei der Oxydation der Harnsäure mit verdünnter Salpetersäure (oder mit Chlorwasser) entsteht Alloxantin, welches als eine Verbindung von Alloxan mit Dialursäure $CO \genfrac{<}{>}{0pt}{}{HN - CO}{HN - CO} CH . OH$ aufgefasst werden kann. Ammoniak führt die Dialursäure in Dialuramid $CO \genfrac{<}{>}{0pt}{}{HN - CO}{HN - CO} CH . NH_2$ (Amidobarbitursäure, Uramil, Murexan) über. Die Purpursäure ist aber eine Verbindung von Alloxan mit Dialuramid.

k. Harnsäure giebt mit salpetriger Säure Stryphninsäure (Gibbs)



$$C_5H_4N_4O_3 + HNO_2 = C_4H_3N_5O_2 + H_2O + CO_2$$

oder Urinylsäure (und Glykolsäure) (Sokoloff)



$$2\, C_5H_4N_4O_3 + 3\, HNO_2 + N_2O_3 = C_8H_7N_7O_6 + HO . CH_2 . COOH + 3\, N + 3\, NO_2$$

l. Mit verdünnter rother rauchender Salpetersäure entwickelt Harnsäure nach Heinrich $^1/_4$ ihres Stickstoffs; mit salpetrigsaurem Kali und concentrirter Essigsäure nach Emmerling in der Kälte so gut wie Nichts, in der Wärme ungefähr $^1/_3$ ihres Stickstoffs; mit salpetrigsaurem Kali und verdünnter Schwefelsäure in der Wärme nach Kreusler[2]) 39,3 $^0/_0$ ihres Stickstoffs.

m. Bei längerer Einwirkung von unterbromigsaurem Natron auf Harnsäure giebt sie nach Hüfner 47,1, nach Falck[3]) 47,8 $^0/_0$ ihres Stickstoffs als Gas ab.

Bromhaltige Lösung von unterchlorigsaurem Natron nimmt mit Harnsäure eine intensiv rosenrothe Färbung an, die nach einiger Zeit verschwindet (Dietrich[4]).

---

1) Krukenberg, Verhandl. der physik. med. Gesellsch. zu Würzburg, N. F. **18**. 199. 1884.

2) F. Heinrich, Sachsse's Phytochemische Untersuchungen **1**. 101. — A. Emmerling, Landwirthschaftl. Versuchsstation. **32**. 447. — U. Kreusler, das. **31**. 309.

3) Hüfner, Journ. f. prakt. Ch. [2] **3**. 21. — Falck, Pflüger's Archiv **26**. 406.

4) Dietrich, Ztschr. f. anal. Chem. **4**. 176.

n. Bei 4 st. Erhitzen von Harnsäure mit Phosphorsäure auf 150° treten nach Schöndorff[1]) 14,8% Stickstoff, bei 230° 31,6% als Ammoniak auf; sie enthält 33,3% Stickstoff. Bei 4 st. Erhitzen mit alkalischer Chlorbaryumlösung auf 230° liefert sie 3 Mol. Kohlensäure, giebt aber den Stickstoff nur unvollständig ab.

o. Beim Verbrennen der Harnsäure oder ihrer Salze entwickelt sich Blausäure.

C. *Darstellung.* Zur Darstellung im Grossen lässt sich der Harn schon darum nicht verwenden, weil er viel zu arm an Harnsäure ist. Es eignen sich dazu nur Schlangenexcremente und Guano.

1. Aus Schlangenexcrementen. Die gepulverten Excremente werden nach Bensch[2]) in 5 proc. Kalilauge gelöst und so lang damit gekocht, bis der Geruch nach Ammoniak verschwunden ist. Darauf leitet man durch die filtrirte Lösung einen lebhaften Strom Kohlensäure, bis der anfangs gallertige Niederschlag körnig und die Flüssigkeit beinahe neutral geworden ist Der so entstandene Niederschlag von saurem Kaliumurat wird mit Wasser gewaschen, bis das Waschwasser in der zuerst abgelaufenen Lauge eine Trübung hervorruft. Man löst das Salz in verdünnter Lauge und giesst es noch heiss in überschüssige Salzsäure. Das Verfahren lässt sich auch auf Hühner- oder Taubenkoth anwenden. — Ist die Lösung des Urats in Lauge noch stark gefärbt, so behandelt man diese zweckmässig nochmals mit Kohlensäure; die aus diesem zweiten Niederschlag abgeschiedene Harnsäure ist dann nur noch schwach gelb, aber für die meisten Zwecke genügend rein. — Auch die käufliche Harnsäure muss, wenn sie nicht blos aus Krystallen besteht, diesem Reinigungsverfahren unterworfen werden; die Ausbeute beträgt nur ungefähr 50%. Es wird sich lohnen, die in Lösung gebliebene Harnsäure durch Eindampfen zu gewinnen.

2. Aus Guano. Peru-Guano wird so oft mit Kalkmilch und Wasser ausgekocht, als der Auszug noch gefärbt ist, der bleibende Rückstand dann so lange mit kohlensaurem Natron ausgekocht, bis das Filtrat mit Salzsäure keinen Niederschlag mehr giebt. Die gesammte Lösung wird zuerst mit essigsaurem Natron, dann bis zur sauren Reaction mit Salzsäure versetzt, der aus Harnsäure und Guanin bestehende Niederschlag ausgewaschen und darauf mit mässig verdünnter Salzsäure ausgekocht, wobei das Guanin in Lösung geht, die Harnsäure aber grösstentheils zurückbleibt (Strecker[3]).

Als farblos ist eine Harnsäure nur dann zu bezeichnen, wenn ihre Lösung in Lauge oder die abgeschiedene freie Harnsäure farblos erscheint. Das saure Urat aus noch gelber Säure ist oft schneeweiss. Aus dem Harn abgeschiedene Harnsäure nach dem Verfahren von Bensch (C. 1.) völlig von Farbstoff zu befreien, scheint kaum möglich; die Säure behält immer einen Stich ins Bräunlichgelbe. Auch bleibt viel Harnsäure in der Bicarbonatlauge gelöst; um den ganz erheblichen Verlust zu vermeiden, dampft man diese zur Trockne ein und behandelt den Rückstand mit Wasser, welches den Farbstoff aufnimmt und das Urat wenig gefärbt zurück lässt. Dieses Urat verarbeitet man mit dem durch Kohlensäure niedergeschlagenen Antheil. Gössmann entfärbt die kochende Lösung der Harnsäure in Natronlauge mit wenig Permanganat und fällt das Filtrat mit Salzsäure. Gibbs[4]) kocht die alkalische Lösung kurze Zeit mit 5% der Harnsäure an Kaliumbichromat, schüttelt das Filtrat mit Thierkohle, fällt mit Salzsäure und kocht die Harnsäure zuletzt wiederholt mit starker Salzsäure aus. Die Lösung lässt sich

---

1) B. Schöndorff, Pflüger's Achiv **62**. 29. 1895.
2) A. Bensch, Ann. d. Ch. u. Pharm. **54**. 190. 1845.
3) Strecker, Ann. d. Ch. u. Pharm. **118**. 152.
4) Gössmann, Ann. d. Ch. u. Pharm. **99**. 374. — W. Gibbs, Ztschr. f. Ch. [2] **5**. 729. 1869.

auch durch Natriumamalgam entfärben (Hlasiwetz). Ganz rein erhält man die Harnsäure, wenn man ihr Sulphat (B. 4. a. S. 320) so oft aus concentrirter Schwefelsäure (durch Lösen in Wasserbadwärme und Erkaltenlassen) umkrystallisirt, bis sich die Schwefelsäure nicht mehr färbt, das Salz dann mit Wasser zersetzt und die Schwefelsäure wegwäscht, doch wird man nur selten in die Lage kommen, dieses umständliche Verfahren, gegenüber dem von Bensch, einzuschlagen.

Vom Erythrin der ziegelrothen Sedimente lässt sich die Harnsäure nach Zoja befreien, wenn man eine Lösung des Sediments in heissem Wasser mit Amylalkohol schüttelt, beim Erkalten krystallisirt die Harnsäure farblos aus.

3. Aus Harn. Die Darstellungsweisen der Harnsäure haben wesentlich nur für den Nachweis und vor Allem für die quantitative Bestimmung der Harnsäure im Harn Bedeutung.

a. Man versetzt eiweissfreien Harn mit $^1/_{40}$—$^1/_{20}$ Vol. conc. Salzsäure oder Essigsäure, und lässt 24—48 Stunden stehen. Die Harnsäure setzt sich dabei in meist sehr gefärbten Krystallen am Boden und an der Wand des Gefässes ab.

Auf diese Weise erhält man nicht alle Harnsäure, aus manchen Harnen auch gar keine. Aus Hundeharn fällt die Harnsäure gemischt mit Kynurensäure und ist von dieser nach § 24. VI. C. (S. 254) zu trennen.

b. Man löst nach Jaffé in Harn bis nahe zur Sättigung fein gepulverte Pikrinsäure (1 g auf 150 cc Harn) oder versetzt je 100 cc Harn mit 20 cc einer 5 proc. alkoholischen Pikrinsäurelösung, wäscht den Niederschlag erst mit wässriger Pikrinsäurelösung, dann mit Alkohol, trocknet einigermaassen, kocht den Niederschlag mit einer mässigen Menge 3—6 fach verdünnter Salzsäure und schüttelt nach dem Erkalten die Pikrinsäure mit Aether aus. Aus der wässrigen Lösung scheidet sich die Harnsäure binnen mehreren Stunden vollständig aus (vgl. B. 4. c. S. 321).

c. Der Harn wird nach E. Ludwig[1]) gleichzeitig mit Magnesiamischung und ammoniakalischer Silberlösung gefällt, der Niederschlag mit Hilfe der Wasserluftpumpe mit ammoniakhaltigem Wasser gewaschen, durch Erwärmen mit einer Lösung von Einfach-Schwefelalkali zerlegt, die Lösung filtrirt und das Filtrat nach dem Ansäuern mit Salzsäure auf ein kleines Volumen eingedampft. Die Harnsäure fällt dabei krystallinisch aus.

Von beigemengtem Schwefel befreit man sie durch Waschen mit Schwefelkohlenstoff und verdrängt diesen zuletzt mit Aether. Der Harn muss eiweissfrei sein, darf aber Albumose enthalten. Durch die Silberlösung werden auch die Xanthinbasen gefällt, aber zuletzt von der Salzsäure wieder gelöst. Das Verfahren ist dem unter C. 3. a. beschriebenen bei Weitem vorzuziehen, da man mit demselben alle Harnsäure aus dem Harn fällt und sich so auch noch sehr geringe Mengen Harnsäure nachweisen lassen (vgl. B. 3. c. β. S. 318).

Salkowski[2]) hat zuerst gezeigt, dass sich die der Fällung durch Säure entgehende Harnsäure aus dem Filtrat noch durch ammoniakalische Silberlösung gewinnen lässt und Maly hat nachgewiesen, dass der dabei entstehende Niederschlag

---

[1]) E. Ludwig, Anzeiger der k. Akademie d. Wissensch., mathem. naturw. Cl., **18**. 92. 1881; Ztschr. f. anal. Ch. **21**. 148; Wiener med. Jahrb. 1884. 599; Ztschr. f. anal. Ch. **24**. 637.

[2]) Salkowski, Virchow's Archiv **52**. 60. 1871.

ein Doppelsalz der Harnsäure mit Silber und einer zweiten Basis ist. Ludwig hat das Verfahren insofern vereinfacht, als er die gesammte Harnsäure auf einmal als Silber-Magnesiasalz fällt.

Die Magnesiamischung und die ammoniakalische Silberlösung werden vor dem Zusatz zu dem Harn gemischt und falls ein Niederschlag von Chlorsilber entsteht, dieser durch Ammoniak in Lösung gebracht. Entsteht dabei ein flockiger Niederschlag (von Magnesiumhydrat), so kann man diesen wieder durch Salmiak lösen. Mit dem Urat fällt zugleich viel Tripelphosphat, was beabsichtigt ist, da es das Auswaschen des sonst gelatinösen Niederschlags erleichtert. Das Schwefelalkali muss aus salpeterfreiem Alkalihydrat bereitet werden, weil sich sonst beim Ansäuern des Filtrats vom Schwefelsilberniederschlag mit Salzsäure Chlor entwickelt, welches Harnsäure zerstört (B. 5. g). Die Digestion des Harnsäureniederschlags mit dem (alkalihydrathaltigen) Einfach-Schwefelalkali darf nicht über die zur Zersetzung des Silberniederschlags erforderliche Zeit hinaus ausgedehnt werden, weil dabei sonst ein merklicher Verlust von Harnsäure eintritt (B. 5. e). Zur Darstellung der Harnsäure kann man sich derselben Lösungen bedienen, welche für die quantitative Bestimmung der Harnsäure nach der angeführten Methode vorgeschrieben werden.

Das Verfahren ist auch gut auf Hundeharn anwendbar, denn die Kynurensäure bleibt dabei in Lösung.

d. Sättigt man den Harn mit Chlorammon, so fällt, wie Hopkins[1]) zuerst nachwies, alle Harnsäure als Ammonurat aus (B. 3. c. α. S. 317). Man löst den Niederschlag in heissem Wasser, fügt reichlich Salzsäure hinzu und lässt, wenn die Lösung verdünnt war, nach dem Einengen, erkalten, wobei die Harnsäure meistens gefärbt auskrystallisirt. Ein Theil des Farbstoffs lässt sich mit Alkohol wegwaschen.

Zum Sättigen des Harns genügt, wenn man auf 100 cc 30 g Salmiak in demselben auflöst; darnach muss der Harn noch 2 Stunden stehen, wenn man sicher alle Harnsäure abscheiden will. Mit der Harnsäure fällt auch Xanthin, welches bei der Behandlung des Niederschlags mit Salzsäure in Lösung bleibt. — Auch aus Hundeharn kann man auf diese Weise die Harnsäure gewinnen. — Sättigen des Harns mit Ammonsulphat schlägt die Harnsäure als Ammonurat nach Garrod und Hopkins[2]) ebenso vollständig nieder, wie Salmiak, aber langsamer und noch minder rein.

e. Zur Darstellung der Harnsäure lässt sich auch nach Krüger u. Wulff[3]) die Unlöslichkeit ihrer Kupferoxydulverbindung verwenden (B. 3. c. γ. S. 318). Man versetzt den kochenden Harn mit einer Kupfervitriol- und einer Natriumbisulphitlösung, wozu auf das Liter Harn 50 cc gesättigter Kupfervitriollösung und 25 g Bisulphit genügen, kocht noch einmal auf und wäscht den Niederschlag nach 2 stündigem Stehen durch Decantiren und zuletzt auf dem Filter einigermaassen oder trennt ihn von der Flüssigkeit durch Centrifugiren. Der Niederschlag wird darauf in warmem Wasser mit einer Lösung von farblosem Schwefelnatrium zerlegt und das Filtrat mit Salzsäure schwach übersättigt, wobei die Harnsäure, gewöhnlich mit etwas Schwefel, ausfällt. Man reinigt sie nach dem Verfahren von Bensch (C. 1).

---

1) F. Gowland Hopkins, Guy's Hosp. Reports **48**. 299. 1891; Chem. Centralbl. 1892. **2**. 269.

2) A. E. Garrod u. F. G. Hopkins, Journ. of Physiol. **20**. 118. 1896.

3) M. Krüger u. C. Wulff, Ztschr. f. physiol. Ch. **20**. 181 u. 171.

Mit der Harnsäure fallen ausser den Xanthinbasen auch der Rhodanwasserstoff und das Eiweiss quantitativ (Huppert[1]), diese bleiben aber in der angesäuerten Flüssigkeit gelöst. Schwefelammon ist zum Zerlegen des Kupferoxydulniederschlags nicht geeignet, weil sich das unlösliche Ammonurat bilden würde. Das Schwefelalkali muss aus Natrium- und Kaliumhydrat dargestellt werden, welches keine Sauerstoffverbindungen des Stickstoffs enthält; es würden sonst bei Zusatz von Salzsäure zur alkalischen Lösung salpetrige Säure oder Salpetersäure und Chlor auftreten und Harnsäure oxydirt werden; man bereitet das Reagens daher aus Natriumhydrat e natrio. Gelbes Schwefelalkali giebt mit Säuren einen starken Niederschlag von Schwefel, der sich der Harnsäure beimengen würde. Farbloses Schwefelalkali erhält man, indem man die eine Hälfte der Lauge mit Schwefelwasserstoff sättigt und die andere Hälfte dazu giesst. Zur Zerlegung des Kupferoxydulniederschlags verwendet man wenig mehr Sulphid, als gerade nöthig; man setzt so lang von dem Reagens zu, bis der Niederschlag schwarz geworden ist und prüft dann eine abfiltrirte Probe mit Kupfersulphat oder Bleiacetat auf Sulphid; vom Kupfersalz darf nur wenig zugesetzt werden, weil sonst der Niederschlag auch bei Gegenwart von Sulphid nicht schwarz erscheint, sondern, von einer unlöslichen Verbindung von Harnsäure und Xanthinbasen mit Kupferoxyd grün. Eine kleine Menge der Harnsäure beigemengten Schwefels braucht nicht besonders entfernt zu werden; er verschwindet bei der Reinigung der Harnsäure nach Bensch.

f. Die Isolirung der Harnsäure aus dem Vogelharn bietet insofern Schwierigkeiten, als es nicht leicht ist, die Harnsäure in Lösung zu bringen. Nach dem Vorgang von v. Knieriem extrahirt man den getrockneten Vogelkoth erst mit absolutem Alkohol oder Aether-Alkohol in der Wärme und kocht ihn dann mit 1—2 proc. Natronlauge aus, wobei ein Theil der Harnsäure zerstört wird. Die filtrirte Lösung kann dann nach C. 1. weiter verarbeitet werden. — Bei dem von Meissner angewandten Verfahren wird das Lösen der Harnsäure in Lauge umgangen. Darnach wird der Harn sammt dem Koth in einer Reibschale mit Wasser zerrieben, die ganze Masse unter mässigem weiteren Wasserzusatz eine Weile gekocht, siedend heiss durch ein dichtes Tuch colirt und unter etwas Wasser stark ausgeknetet. Die Harnsäure geht dabei zum Theil in Lösung, zum Theil bleibt sie als milchige Trübung suspendirt. Man versetzt die gesammte Flüssigkeit mit Salzsäure und filtrirt nach 24—28 Stunden ab. — Bensch[2]) hat nach dem C. 1. beschriebenen Verfahren aus Tauben- und Hühnerkoth die Harnsäure mit fast demselben günstigen Resultat dargestellt, wie aus Schlangenexcrementen.

4. Aus Harnsteinen. Man zieht das feingepulverte Concrement so oft mit verdünnter warmer Salzsäure aus, bis sich das Volumen des Pulvers nicht mehr merklich vermindert, löst den Rest in warmer verdünnter Natron- oder Kalilauge, übersättigt mit Salzsäure und lässt 24—48 Stunden stehen. War die alkalische Lösung sehr verdünnt, so dampft man nach dem Ansäuern auf ein kleines Volumen ein.

5. Trennung der Harnsäure von den Xanthinbasen. Auf welche Weise sich diese Trennung scharf durchführen lässt, ist bei den Xanthinbasen (§. 34. C. II. 1. a. γ u. b.) angegeben.

D. *Nachweis.* a. Bei der mikroskopischen Untersuchung können die B. 1. geschilderten Formen sämmtlich vorhanden sein, erweisen sich aber

---

1) Huppert, Ztschr. f. physiol. Ch. **22**. 556. 1897.

2) W. v. Knieriem, Ztschr. f. Biol. **13**. 41. — G. Meissner, Ztschr. f. rat. Med. [3] **31**. 198. — Bensch, Ann. d. Ch. u. Pharm. **54**. 190.

nicht alle als charakteristisch. Für die Gegenwart von Harnsäure sprechen die rhombischen Tafeln und die Wetzsteinformen, namentlich dann, wenn letztere gelb oder braun gefärbt sind. Man kann in Zweifelfällen zu den Krystallen auf dem Objectträger einen Tropfen concentrirter Natronlauge fliessen lassen; Harnsäure löst sich auf. Auf Zusatz von einem Tropfen concentrirter Essigsäure zu der erhaltenen Lösung scheidet sich die Harnsäure allmählich wieder aus, namentlich an festen Substanzen (einem Pflanzenfäserchen etc.) und zwar nun häufig in regelmässig ausgebildeten, weniger gefärbten rhombischen Täfelchen. — Harnsaure Salze versetzt man unter dem Mikroskop direct mit concentrirter Essigsäure und wartet die Ausscheidung der Harnsäure ab. — Tetraurat zersetzt sich bei anhaltender Behandlung mit Wasser in Harnsäure, welche auskrystallisirt, und saures Urat, welches in Lösung geht.

Wäscht man ein amorphes Uratsediment auf dem Objektträger in der Weise, dass man auf der einen Seite des Deckgläschens Wasser zufliessen lässt und es auf der andern Seite mit Fliesspapier wieder wegnimmt, so lässt sich diese Zersetzung unter dem Mikroskop wahrnehmen (Roberts).

b. Man stellt die Murexidprobe an (B. 5. i. S. 325).

Bei Verwendung von Salpetersäure geben das Xanthin, das Guanin, das Epiguanin und eine von Krüger im Harn entdeckte, nicht benannte Xanthinbasis, bei Verwendung von Chlor das Xanthin und seine beiden Homologen die Reaction gleichfalls in ähnlicher Weise. Eine Verwechslung mit diesen Basen ist ausgeschlossen, wenn die zu der Probe verwendete Substanz in einer genügenden Menge Salzsäure unlöslich war.

Nach Meissner u. Shepard[1]) wird die Probe durch die Gegenwart von Bernsteinsäure oder eines bernsteinsauren Alkalis sowie von Kynurensäure erheblich beeinträchtigt oder selbst ganz behindert, während andere organischsaure Alkalien nicht so nachtheilig wirken wie die genannten Säuren.

Eine Abart der Murexidprobe ist die von Malerba[2]) angegebene Reaction. Die Harnsäure wird mit Salpetersäure schwach erwärmt und die Probe nach dem Erkalten mit einigen Tropfen einer 1—2 proc. wässrigen Lösung von Dimethylparaphenylendiamin (Paraamidodimethylanilin) versetzt. Es tritt eine purpurrothe Färbung ein, die beim Erwärmen und Abdampfen schön violettblau wird. Die Färbung verschwindet beim Erkalten und kehrt in der Wärme wieder. Die alkoholische Lösung der violettblauen Substanz hält sich lang; wenige Tropfen der Lösung hinterlassen beim Eindampfen einen violettblauen Rückstand, der bei weiterem Erhitzen roth wird.

Zur Bestätigung der angeführten Proben, nicht aber zum Nachweis der Harnsäure für sich, lassen sich folgende Reactionen verwenden.

c. Die Substanz wird in verdünnte Fehling'sche Flüssigkeit eingetragen und anhaltend gekocht; bei Gegenwart von Harnsäure entsteht ein geringer rother Niederschlag von Kupferoxydul oder ein reichlicher weisser von harnsaurem Kupferoxydul (B. 5. f).

---

1) G. Meissner u. C. U. Shepard, Untersuchungen über die Entstehung der Hippursäure im thierischen Organismus. Hannover 1866. 113 u. 203.

2) P. Malerba, Atti della R. Accad. med. e chir. di Napoli 48; Jahresb. f. Thierch. 1894. 76.

Der rothe Niederschlag von Kupferoxydul lässt sich in der blauen Fehling-schen Flüssigkeit nur schwer sehen. Am Sichersten nimmt man ihn wahr, wenn man die Flüssigkeit stark belichtet und gegen einen dunklen Hintergrund hält. Das auf diese Weise erhaltene Oxydul setzt sich, namentlich beim Abkühlen der Flüssigkeit, schnell ab, und man findet es leicht eher am Boden des Reagensglases abgelagert als in der Flüssigkeit suspendirt.

Stadthagen[1]) hat diese Reaction insofern abgeändert, als er die Probe mit einigen Tropfen einer Lösung von arseniger Säure in Alkali gelinde erwärmt und dann tropfenweise Kupfersulphat hinzufügt. Durch die arsenige Säure wird das Kupferoxyd zu Oxydul reducirt und dieses giebt mit der Harnsäure sofort den Niederschlag von harnsaurem Kupferoxydul. — Kupferoxydul lässt sich noch in verschiedener anderer Weise erzeugen. — Die Probe allein für sich ist trügerisch; auch die Xanthinbasen und der Rhodanwasserstoff werden gefällt.

d. Man löst die Substanz, nöthigenfalls unter Zuhilfenahme von wenig Natronlauge, und setzt salpetersaures Silber zu; tritt nicht sogleich ein schwarzer Niederschlag auf, so fällt man mit dem Silbernitrat aus, filtrirt schnell und fügt dem Filtrat etwas kohlensaures Natron zu; ist Harnsäure vorhanden, so entsteht jetzt ein schwarzer Niederschlag. — Oder man benetzt einen Streifen Papier mit salpetersaurem Silber und spritzt auf die feuchte Stelle verdünnte Sodalösung; betupft man das so gebildete kohlensaure Silber mit einer Lösung von Harnsäure oder harnsaurem Natron, so entsteht ein schwarzer Fleck (H. Schiff[2]).

Gerbsäure und Schwefelwasserstoff geben diese Reaction auch, sehr verdünnte Ameisensäure nicht oder langsam, dagegen nicht Eiweiss, Gallenbestandtheile, Hippursäure, Benzoësäure, Oxalsäure, Leucin, Harnstoff.

Bei gleichzeitiger Anwesenheit von Ammoniak und viel Ammonsalz ensteht dagegen ein weisser grossflockiger oder gallertiger Niederschlag (B. 3. c. β).

e. Eine Lösung von Wolframsäure (Maschke) oder Phosphormolybdänsäure (Offer) in überschüssiger Natron- oder Kalilauge wird durch Harnsäure in Folge der Reduction der Wolfram- oder der Molybdänsäure blau und kann einen blauen Niederschlag abscheiden (B 5. f). Die Reaction wird auch erhalten durch Eiweiss, Alkaloide, Gerbsäure (Offer), Levulose (Maschke), aber nicht durch Harnstoff, Kreatinin (Maschke, Offer), Traubenzucker oder Rohrzucker (Maschke).

§ 34. Die Xanthinbasen.

Nucleinbasen (Kossel), Alloxurbasen (Kossel und Krüger). Für die Alloxurbasen und die Harnsäure zusammen haben Kossel und Krüger den Namen Alloxurkörper, E. Fischer den Namen Purinkörper vorgeschlagen.

A. *Vorkommen.* Von Xanthinbasen sind zehn im Harn aufgefunden worden: Xanthin $C_5H_4N_4O_2$, Heteroxanthin (Methylxanthin) $C_6H_6N_4O_2$ oder $C_5H_3N_4O_2 . CH_3$, Paraxanthin (Dimethylxanthin) $C_7H_8N_4O_2$ oder $C_5H_2N_4O_2(CH_3)_2$, Guanin $C_5H_5N_5O$, Hypoxanthin (Sarkin) $C_5H_4N_4O$,

---

[1]) Stadthagen, Virchow's Archiv **109**. 399. 1887.
[2]) H. Schiff, Ann. d. Ch. u. Pharm. **109**. 67.

Adenin $C_5H_5N_5$, Episarkin $C_4H_6N_3O$, Carnin $C_7H_8N_4O_3$, Epiguanin $C_{10}H_{13}N_9O_2$ und eine noch unbekannte, von Krüger entdeckte Basis.

Die Menge der im Harn auftretenden Xanthinbasen ist sehr gering. Wenn man den auf die Xanthinbasen entfallenden Stickstoff als Xanthin rechnet, so enthält die Tagesmenge Harn nach Camerer bei gemischter Kost 87 mg Xanthin, bei animalischer Kost 44 mg, bei vegetabilischer 72 mg (Erbsen und Kraut) und 111 mg (Kohl u. Aepfel). Setzt man den Stickstoff der in diesen Versuchen gleichzeitig ausgeschiedenen Harnsäure = 100, so beträgt der Stickstoff der Xanthinbasen bei den vier Ernährungsweisen 18,1, 7,6, 18,1 u. 35.8 (Vergl. § 31). Salkowski bestimmte Harnsäure und Xanthinbasen gesondert im Silberniederschlag; nach ihm machen sie 8—10 % von der Menge der Harnsäure aus. Nach Flatow und Reitzenstein[1]) kommen im Liter Harn 19,8 mg (12,9—34,7) und in der Tagesmenge 29,2 mg (15,6—45,1) Xanthinbasen vor.

Diese Bestimmungen sind die einzigen, welche etwas einigermaassen Verlässliches über die Menge der Xanthinbasen im Harn liefern. Sehr zahlreiche andere sind, wie ich[2]) gezeigt habe, nach einem fehlerhaften Verfahren ausgeführt worden.

1. Seit Marcet (1819) ist das Xanthin einige Male als einziger oder wesentlicher Bestandtheil von Harnsteinen angetroffen worden; Strecker und Scherer haben es zuerst gleichzeitig sicher als Bestandtheil des normalen Menschenharns erkannt. Bei Versuchen im Kleinen hat es Salomon[3]) manchmal vermisst.

Es ist auch von Pecile und von Salomon im Harn der Schweine, sowie von Salomon im Hundeharn nachgewiesen worden. Im Harn Leukämischer ist es in grösserer Menge enthalten als in dem Gesunder; in relativ sehr reichlicher Menge (bis 28,5 mg in 100 cc) hat es Baginsky im Harn nephritischer Kinder aufgefunden, während bei gesunden Kindern in 100 cc Harn nur 3,8 mg nachgewiesen wurden. Gleichfalls in grösserer Menge fand es Pouchet[4]) bei Fieber und besonders bei Affectionen des Nervensystems.

Aus 10 000 Ltr. Menschenharn stellten Krüger und Salomon[5]) 13 g Xanthin dar. — Stadthagen bestimmte in der Tagesmenge Harn Gesunder bei gemischter Kost 0,032 und 0,025 g Xanthin, im Harn eines Leukämischen fand er

---

1) Camerer, Ztschr. f. Biol. 28. 72. 1891. — Salkowski, Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1894. 514. — R. Flatow u. A. Reitzenstein, Deutsche med. Wochenschr. 23. 1897.

2) Huppert, Ztschr. f. physiol. Ch. 22. 556. 1897.

3) Strecker, Ann. d. Ch. u. Pharm. 102. 208. 1857; 108. 140 u. 151. 1858. — Scherer, daselbst 107. 314. 1858. — G. Salomon, Virchow's Archiv 125. 565.

4) D. Pecile, Ann. d. Ch. 183. 141. 1876. — G. Salomon, Du Bois' Archiv 1884. 175; Virchow's Archiv 95. 527. — Salomon, Ztschr. f. physiol. Ch. 11. 413. 1887. — Baginsky, Du Bois' Archiv 1884. 176; Ztschr. f. physiol. Ch. 8. 399. — A. Gabriel Pouchet, Contributions à la connaissance des matières extractives de l'urine. Thèse. Paris 1880, Parent. 28 und 36.

5) M. Krüger und G. Salomon, Ztschr. f. physiol. Ch. 21. 169. 1895.

für den Tag im Mittel aus 7 Bestimmungen 0,07 g (0,005—0,159). — Weiske fand Xanthin als Sediment im Harn eines leukämischen Schafbocks. — Bei einer Pachymeningitis cervicalis hypertrophica wies Pouchet 0,15 g Xanthin in der Tagesmenge Harn, bei Tabes dorsalis 0,08 g nach. — Im Harn eines Hundes bestimmte Stadthagen neben 57 g Harnstoff 0,014 g Xanthin; Baginsky[1]) fand im Harn eines mit 1 Kilo Pferdefleisch gefütterten Hundes nur Spuren Xanthin auf, mehr dagegen nach gleichzeitiger Verfütterung von Hypoxanthin. Aus dem Liter Harn eines mit Kleie gefütterten anscheinend gichtkranken Schweines stellte Pecile 0,0034 g Xanthin dar.

2. Das Heteroxanthin ist von Salomon im Harn des Menschen entdeckt worden; derselbe Forscher fand es auch im Harn des Hundes bei Fütterung mit Fleisch und Gemüse, sowie nach Vergiftung mit Phosphor, sowie in reichlicher Menge im leukämischem Harn auf. Dem Körper zugeführtes Theobromin und Coffeïn erscheinen nach Bondzyński und Gottlieb, sowie Albanese[2]) im Harn als Heteroxanthin.

Salomon gewann aus 1000 Ltr. Menschenharn nur etwa 1 g davon, und aus 10 000 Ltr. Menschenharn stellten Krüger und Salomon 7,5 g dar; doch ist es nach Salomon noch in einigen Litern (0,85—6 Ltr.) nachweisbar (bis zu 10 mg in 5 Liter) wenn auch nicht immer. Aus 6,3 Ltr. leukämischem Harn gewann Salomon 15 mg. Für die Darstellung aus Hundeharn genügten 27,5 Ltr. (130 mg) (Salomon), in 60 Ltr. Rinderharn dagegen konnte Salomon Heteroxanthin nicht nachweisen. Aus 2 Ltr. Hundeharn stellte Albanese[3]) 11 mg, aus 15 Ltr. Hundeharn 80 mg eines Gemengs von Heteroxanthin und Xanthin dar.

3. Das Paraxanthin hat Thudichum und selbständig vor diesem Salomon im Harn des Menschen entdeckt.

Thudichum nannte die dem Theobromin isomere Substanz Urotheobromin. Aus 10 000 Ltr. Menschenharn stellten Krüger und Salomon 12,5 g Paraxanthin dar, doch gewann Salomon schon aus 20 Ltr. mässig concentrirtem Harn einige Dutzend makroskopische Krystalle und hat es nach späterer Mittheilung selbst in 0,84- -5,37 Ltr. Harn häufig, aber nicht immer, noch aufgefunden; 5 Ltr. Harn lieferten bis 10 mg desselben. In etwa 6,3 Ltr. leukämischem Harn dagegen, aus welchem Salomon das Heteroxanthin darstellte, war keine Spur Paraxanthin nachweisbar. Ebenso wenig konnte es von Salomon[4]) in 60 Ltr. Kuhharn aufgefunden werden.

4. Das Guanin bildet nach Pouchet einen normalen Bestandtheil des menschlichen Harns und kommt namentlich bei Fieber und

---

1) M. Stadthagen, Virchow's Archiv **109**. 414. 406. 418. — H. Weiske, Ztschr. f. Biol. **11**. 254. 1875. — Baginsky, Ztschr. f. physiol. Ch. **8** 397.

2) Salomon, Du Bois' Archiv 1885. 370; Berichte d. chem. Gesellsch. **18**. 3407. 1885; Ztschr. f. physiol. Ch. **11**. 412 u. 415. — St. Bondzyński u. R. Gottlieb, Berichte d. chem. Gesellsch. **28**. 1113. 1895; Archiv f. exper. Pathol. **36**. 45. — M. Albanese, Archiv f. exper. Pathol. **35**. 449. 1895.

3) M. Krüger und G. Salomon, Ztschr. f. physiol. Ch. **21**. 169. 1895. — Salomon, Virchow's Archiv **125**. 564. — M. Albanese, a. a. O. **35**. 457.

4) J. L. W. Thudichum, Annals of chemical medicine **1**. 163. 1879; Grundzüge der anat. u. klin. Chem. Berlin 1886. 245; Comptes rendus **106**. 1805. 1888. — Salomon, Du Bois' Archiv 1882. 426; Berichte d. chem. Gesellsch. **16**. 195. 1883; Ztschr. f. klin Med. **7**. Suppl. Heft 63. 1884; Berichte **18**. 3406. 1885. — M. Krüger und G. Salomon, Ztschr. f. physiol. Ch. **21**. 169. 1895. — Salomon, Virchow's Archiv **125**. 565. 1891.

bei Nervenaffectionen vor; im Schweineharn ist es mit Sicherheit zuerst von Pecile[1]) nachgewiesen worden.

Pecile verwendete dazu den Harn desselben Schweines, aus welchem er das Xanthin darstellte; er verarbeitete 20 *l* und gewann aus dem Liter 0,0068 g. Salomon bestätigte den Befund mit nur 5½ *l* beim Schlachten gewonnenen Harns verschiedener Schweine, erhielt die Substanz jedoch nicht ganz rein. Baginsky[2]) führt an, im Harn eines an diphtheritischer Nephritis leidenden Kindes viel einer sich dem Guanin nähernden Substanz gefunden zu haben, doch ist aus seinen Angaben nicht ersichtlich, um welche Xanthinbasis es sich gehandelt hat.

5. Das Vorkommen von Hypoxanthin in normalem Harn ist bereits von Salkowski und von Salomon sehr wahrscheinlich gemacht worden, nachdem es Salkowski bereits in leukämischem Harn gefunden hatte. Doch ist erst Salomon der Nachweis desselben im normalen Menschenharn sowie im Harn des Hundes gelungen. Auch nach Pouchet kommt es im normalen Harn vor. Im Harn Leukämischer findet es sich in grösserer Menge als im Harn Gesunder. Thudichum[3]) hat es auch aus dem Harn von Leber- und Nierenkranken dargestellt, Pouchet bei Fieber und Erkrankung der Nervencentren vermehrt gefunden.

Stadthagen fand im Harn eines Leukämischen in der Tagesmenge neben 0,07 g Xanthin im Mittel 0,009 g (0—0,027 g Hypoxanthin), in kleinen Mengen Harn Gesunder keins Die als Hypoxanthin bestimmte Substanz kann auch ganz oder theilweise Adenin gewesen sein. — Salomon gewann das Hypoxanthin bei der Verarbeitung von 500 *l* Harn von gesunden Menschen. Aus dem Harn eines mit Fleisch gefütterten Hundes stellte Baginsky[4]), auf das Liter 8,5 mg Hypoxanthin dar.

6. Das Adenin hat bisher nur Stadthagen[5]) in 10 l leukämischem Harn aufgefunden; in ebenso viel normalem Harn war es dagegen nicht nachweisbar.

7. Das Episarkin ist zuerst von Balke[6]) im Menschenharn aufgefunden und als eigenartig erkannt worden; er gewann aus 1600 Ltr. nur 0,4 g, aber wohl unter Verlust an Substanz. Eine Substanz, welche für Episarkin gehalten werden darf, stellte Salomon auch aus leukämischem Harn, sowie aus Schweine- und Rinderharn dar.

Aus 5,5 Ltr. Schweineharn gewann Salomon[7]) nur 0,02 g der Basis, aus 60 Ltr. Rinderharn 0,05 g, aus 35 Ltr. leukämischem Harn 0,136 g.

---

1) Pouchet, a. a. O. — Pecile, a. a. O.

2) Salomon, Du Bois' Archiv 1884. 175; Virchow's Archiv **95**. 527. — Baginsky, a. a. O.

3) Salkowski, Virchow's Archiv **50**. 195. 1870. — Salomon, Reichert's und Du Bois' Archiv 1876. 775. — Salomon, Du Bois' Archiv 1882. 426; Ztschr. f. physiol. Ch. **11**. 410. 411. 1887. — Thudichum, Grundzüge der anat. u. klin. Ch. 1886. 248.

4) Stadthagen, Virchow's Archiv **109**. 406. — Baginsky, Ztschr. f. physiol. Chem. **8**. 398.

5) Stadthagen, Virchow's Archiv **109**. 415.

6) P. Balke, Journ. f. prakt. Ch. [2] **47**. 544 u. 563. 1893.

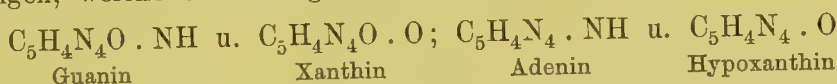
7) G. Salomon, Virchow's Archiv **95**. 527. 1884; Ztschr. f. physiol. Ch. **18**. 207. 1893.

8. Das Carnin kommt nach Pouchet constant in kleiner Menge im normalen Harn vor, in grösserer Menge bei Fieber und bei Affectionen des Nervensystems. Eine dem Carnin ähnliche Basis traf Salomon in leukämischem Harn an (aus 35 Ltr. 0,1 g.) In 15 Ltr. Hundeharn fand Albanese[1]) eine Spur Carnin.

9. Das Epiguanin und

10. eine unbenannte Xanthinbasis hat Krüger[2]) in Gemeinschaft mit C. Wulff im Harn von Irren aufgefunden und beschrieben.

B. *Eigenschaften.* I. Allgemeines. Einige der Basen stehen unter einander und zur Harnsäure in nahen Beziehungen. Das Heteroxanthin und das Paraxanthin sind als Methylderivate des Xanthins aufzufassen. Das Guanin lässt sich nach Strecker durch salpetrige Säure in Xanthin, das Adenin nach Kossel[3]) ebenso in Hypoxanthin überführen, Umsetzungen, welche durch folgende Formeln ausgedrückt werden.


$C_5H_4N_4O . NH$ u. $C_5H_4N_4O . O$; $C_5H_4N_4 . NH$ u. $C_5H_4N_4 . O$
Guanin Xanthin Adenin Hypoxanthin

Wiewohl sich das Xanthin und das Hypoxanthin von der Harnsäure nur durch einen Mindergehalt an Sauerstoff unterscheiden,


$C_5H_4N_4O_3$ $C_5H_4N_4O_2$ $C_5H_4N_4O$
Harnsäure Xanthin Hypoxanthin,

lässt sich doch weder die Harnsäure durch Reduction mit Natriumamalgam (E. Fischer), noch das Hypoxanthin durch Oxydation mit Salpetersäure oder übermangansaurem Kali (Kossel, E. Fischer[4]) in Xanthin verwandeln.

Dagegen tritt nach W. v. Mach sowohl bei unversehrten als bei entleberten Vögeln nach Darreichung von Hypoxanthin eine Vermehrung der Harnsäureausscheidung um 60—70 % des verfütterten Hypoxanthins ein, während nach Baginsky[5]) an Hunde verfüttertes Hypoxanthin im Harn nicht wieder zum Vorschein kommt und das Xanthin vermehrt ist.

Die Verwandtschaft dieser Gruppe der Xanthinbasen unter sich und mit der Harnsäure findet in folgenden von E. Fischer[6]) aufgestellten Constitutionsformeln ihren Ausdruck.

1) Pouchet, a. a. O. 19 u. 28. — Salomon, Ztschr. f. physiol. Chemie **18**. 211. — M. Albanese, Archiv f. exper. Pathol. **35**. 457.

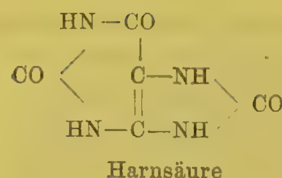
2) M. Krüger, Du Bois' Archiv 1894. 553.

3) A. Strecker, Ann. d. Ch. und Pharm. **108**. 141. 1858; **118**. 166. — A. Kossel, Ztschr. f. physiol. Chem. **10**. 258. 1886.

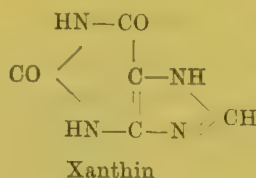
4) E. Fischer, Ber. d. ch. Gesellsch **17**. 329. 1884. — A. Kossel, Ztschr. f. physiol. Ch. **6**. 428. 1882.

5) W. v. Mach, Arch. f. exper. Pathol. **23**. 148. 1887; **24**. 389. 1888. — Baginsky, Zeitschr. f. physiol. Ch. **8**. 397.

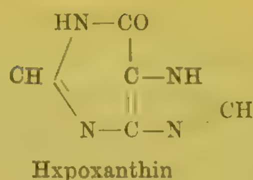
6) E. Fischer, Ber. d. chem. Gesellsch. **30**. 549. 1897.



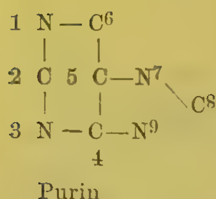
Harnsäure



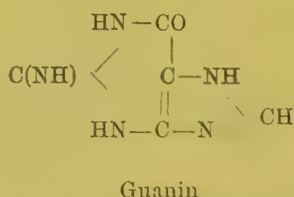
Xanthin



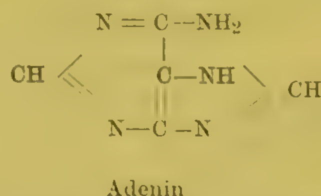
Hxpoxanthin



Purin



Guanin



Adenin

Allen diesen Verbindungen liegt der neungliedrige Kohlenstoff-Stickstoff-Doppelring Purin zu Grunde und sie können nach demselben bezeichnet werden: das Hypoxanthin als Oxypurin, die Harnsäure als Trioxypurin, das Guanin, wenn die Glieder 1, 2 und 3 die tautomere Form $=N-C.NH_2=N-$ annehmen, als 2 Amino-6 Oxypurin, der Adenin als Aminopurin.

Das Heteroxanthin ist von Krüger u. Salomon[1]) als 7 Methylxanthin erkannt worden. Von den beiden, dem Paraxanthin isomeren Dimethylxanthinen wird den beiden Methylgruppen im Theobromin die Stellung 1, 7, im Theophyllin 1, 3 zugeschrieben und darum bleibt für das Heteroxanthin die Stellung 3,7 übrig.

II. Vergleichende Uebersicht der Eigenschaften.

1. Amorph werden erhalten das Hypoxanthin, die unbenannte Basis von Krüger und bei gewöhnlicher Darstellung auch das Xanthin und das Guanin; aber gerade die letztgenannten zwei Basen können sich unter bestimmten Bedingungen in charakteristischen Formen abschieden.

Das Hypoxanthin bildet hautartige Massen kleiner, mit scharfen Ecken versehener Körnchen, welche für diese Basis eigenthümlich sind. Aus heisser, stark verdünnter Lösung scheidet sich das Xanthin aus in makroskopischen lockeren Drusen grosser, dünner glänzender, rhombischer Platten, oder einzelnen rhombischen, der Harnsäure ähnlichen Tafeln, das Guanin aus stark verdünnten heissen Lösungen in schwachem Alkohol in dichten kugeligen oder fächerförmigen Drusen prismatischer oder pyramidaler Krystalle; das Carnin bildet, leicht und ohne besondere Vorkehrungen makroskopische dichte Drusen kurzer Krystalle; das Paraxanthin krystallisirt in sechsseitigen Tafeln und aus heisser, concentrirter Lösung in wasserfreien, prismatischen Nadeln. Das Heteroxanthin bildet Nadeln oder Prismen, die in Drusen oder Fächern angeordnet sein können; aus Ammoniak scheidet es sich in Form gleichseitiger sphärischer Dreiecke ab. Das Adenin bildet lange Nadeln oder mikroskopische lange platte sechsseitige Prismen, die zu Büscheln angeordnet sein können, oder gestreckte Pyramiden (Wetzsteine), das Episarkin gleichfalls makroskopische Nadeln und Prismen, zuweilen in Büscheln; vom Adenin unterscheiden sich aber die Prismen des Episarkins dadurch, dass die des Episarkins luftbeständig sind, die des Adenins sich dagegen unter Verlust ihres Krystallwassers an der Luft, schnell bei 53°, trüben. Das Epiguanin ist in feinen, langen Nadeln erhalten worden. — Selbstverständlich können die krystallisirenden Basen, namentlich in unreinem Zustand, amorph (in Knollen u. s. w.) auftreten.

---

[1]) Krüger u. Salomon, a. a. O.

2. In Wasser löst sich nur die unbenannte Basis leicht, die übrigen schwer oder nicht. Von den Lösungen einiger Basen ist ermittelt, dass sie gegen Lackmus neutral reagiren.

Unlöslich ist das Guanin, sehr schwer löslich das Epiguanin. Das Xanthin und das Episarkin lösen sich in 13000 Theilen, das Hypoxanthin in 1880, das Adenin in 1086 Theilen Wasser. Durch Sättigen ihrer Lösungen mit Ammonsulphat werden nach Edmunds Xanthin und Hypoxanthin nicht gefällt, durch Sättigen mit Chlorammon wird nach Hopkins[1]) das Xanthin gefällt, das Hypoxanthin nicht.

3. In den Alkalihydraten lösen sich alle Basen leicht, in Ammoniak nur einige; die Verbindungen mit den übrigen Metallen sind schwer löslich oder unlöslich.

a. In Ammoniak löst sich das Guanin fast gar nicht, das Epiguanin sehr schwer, das Carnin und das Episarkin schwer. Das Guanin, Epiguanin, Episarkin und wohl auch das Carnin werden aus ihren sauren Lösungen beim Uebersättigen mit Ammoniak gefällt; aus ihren Lösungen in Alkalihydrat fallen auf Zusatz von Salmiak nachweislich die Homologen des Xanthins und das Guanin, die anderen wahrscheinlich auch im umgekehrten Verhältniss zu ihrer Löslichkeit in Ammoniak (das Xanthin nicht).

b. In concentrirter (30 proc.) Natron (oder Kali-) lauge sind allein unlöslich die beiden Homologen des Xanthins und das Epiguanin. Die Lösungen in den Alkalihydraten reagiren alkalisch, werden durch Kohlensäure gefällt (schon beim Stehen an der Luft) und scheiden dabei entweder ein Salz der Basis ab (wie das Xanthin) oder, wenn das Alkali in Bicarbonat übergeführt ist, die freie Basis. Durch Essigsäure, durch saure Salze, oder beim Neutralisiren mit einer Mineralsäure werden die Basen mehr oder minder vollständig gefällt. Fällung aus alkalischer Lösung durch Salmiak 3. a.

c. Von den krystallisirenden Barytsalzen (vacuumtrocken $X . Ba(HO)_2$) löst sich das Xanthinsalz nur wenig in kochendem Wasser, das Guaninsalz nicht unbedeutend, das des Hypoxanthins leichter als das reine Hypoxanthin in Wasser (Strecker). Das Adenin giebt mit Barytwasser einen Niederschlag (Kossel).

d. Durch Bleiessig und Ammoniak werden alle Xanthinbasen, mit Ausnahme des Epiguanins, gefällt (Balke, Krüger). Mit Bleiessig allein geben auch das Hypoxanthin und das Carnin Niederschläge, jedoch nur in Abwesenheit von Bleizucker (Weidel[2]). Vom Xanthin, Hypoxanthin und Adenin ist bekannt, dass sie aus ihren Lösungen in 2 Mol. Natriumhydrat durch Bleizucker abgeschieden werden.

e. Essigsaures Kupfer fällt die meisten der Basen, das Hypoxanthin schon in der Kälte; auch das Carnin wird nach Krukenberg und Wagner[3]) und nach Balke[2]) gefällt, wiewohl es Pouchet nach Ausfällung der übrigen Basen durch Kupferacetat in der Mutterlauge auffand. Vom Episarkin, Epiguanin und der unbenannten Basis ist das Verhalten nicht bekannt. Die Niederschläge sind hellgrün oder bräunlich.

f. Mit Kupferoxydul gehen alle Basen, wie die Harnsäure, unlösliche Verbindungen ein (das Verhalten des Episarkins ist nicht bekannt). Drechsel stellte zuerst die Verbindungen von Xanthin, Guanin und Hypoxanthin dar durch Zusatz einer ammoniakalischen Kupferchlorürlösung zur Lösung der

---

[1]) A. Edmunds, Journ. of Physiol. 17. 452. 1895. — F. G. Hopkins, Journ. of Pathol. and Bacteriol. 1893. 452.

[2]) Balke, Journ. f. prakt. Ch. [2] 47. 566. — M. Krüger, Du Bois' Arch. 1894. 533. — Weidel, Ann. d. Ch. u. Pharm. 158. 362 u. 358. 1871.

[3]) Krukenberg u. Wagner, Sitzungsber. d. physikal. med. Gesellsch. zu Würzburg 1883.

Basen, oder durch Erwärmen der Basis in Fehling'scher Lösung mit Traubenzucker oder durch Versetzen einer Lösung der Basis in Fehling'scher Lösung mit Hydroxylaminsalz. Balke fügte diesen das Heteroxanthin, Paraxanthin, Adenin und Carnin hinzu. Krüger[1]) zeigte dann, dass sich die Verbindungen auch darstellen lassen mittelst Kupfersulphat und Bisulphit oder Thiosulphat; mittelst Bisulphit beginnt die Fällung beim Guanin, Hypoxanthin und Adenin schon in der Kälte und verläuft schnell in der Wärme; bei Verwendung von Thiosulphat als Reductionsmittel wird das Hypoxanthin in der Kälte nicht gefällt, wohl aber in der Wärme; Guanin und Adenin verhalten sich wie bei der Fällung mit Bisulphit. Die Verbindungen sind flockig oder gallertig und weiss, werden aber an der Luft bald grün und braun, sind in Wasser so gut wie unlöslich, lösen sich aber in Thiosulphat, in Mineralsäuren, namentlich leicht in Salpetersäure, langsam in heisser Essigsäure und bei Zutritt von Luft in Ammoniak, wenn ihre Basis in Ammoniak löslich ist. Die Hydrate der fixen Alkalien lösen sie nicht, Alkalisulphid zersetzt sie.

4. In Mineralsäuren lösen sich die Xanthinbasen mehr oder minder leicht, und bilden mit ihnen krystallisirende Salze, von denen die meisten durch Wasser allein zersetzt werden. Wie die neutralen Salze des Hypoxanthins und des Adenins werden auch die der übrigen Basen gegen Lackmus sauer reagiren. Hypoxanthin und Adenin lösen sich leicht in Salzsäure, Xanthin und Guanin schwer. Organische Säure (Essigsäure) löst sie schwer oder nicht.

a. Das Chlorid des Xanthins bildet kuglige Aggregate rauher Octaeder. Das des Paraxanthins krystallisirt sehr schwer, die Chloride aller anderen Basen bilden Prismen (das des Hypoxanthins auch Tafeln), die Krystalle des Heteroxanthins und Guanins sind makroskopisch.

b. Chloroplatinate. Vom Episarkin schwer oder nicht darstellbar, das des Xanthins (gelbe Nadeln) und Heteroxanthins leicht löslich, das des Carnins und der unbenannten Basis gelbe Pulver, die übrigen prismatisch(das des Epiguanins sechsseitige orangefarbene Prismen, charakteristisch).

c. Chloraurate. Vom Guanin nicht darstellbar, das des Adenins, Episarkins, Epiguanins und der unbenannten Basis schwer lösliche Nadeln oder Prismen.

d. Nitrate. Epiguanin kleine polyedrische Krystalle, unbenannte Basis vierseitige tonnenförmige Plättchen, Guanin feine Nadeln und sechsseitige Tafeln, Adenin Sterne, Xanthin gewimperte Kugeln.

e. Sulphate. Adenin schwer lösliche wohl ausgebildete Krystalle, Xanthin perlglänzende rhombische Tafeln oder Nadelbüschel, Hypoxanthin Nadeln, Guanin makroskopische Prismen.

f. Pyrochromate. Guanin und Epiguanin bilden orangefarbene, schwer lösliche Prismen, Adenin goldgelbe sechsseitige Tafeln. Xanthin und Hypoxanthin geben keinen Niederschlag.

g. Metaphosphate. Von den untersuchten Basen geben nur Adenin und Guanin äusserst feinkörnige, flockige oder häutige Niederschläge. Beide Salze lösen sich sehr schwer in Wasser. Die Adeninverbindung ist löslich in überschüssiger Metaphosphorsäure, beide in Mineralsäure und in Alkalihydrat, die Adeninverbindung leicht auch in Ammoniak.

5. In saurer Lösung werden alle Xanthinbasen, mit Einschluss des Carnins (Huppert), durch Phosphorwolframsäure gefällt

---

1) E. Drechsel, Ber. d. chem. Gesellsch. **25.** 2454. 1892. — Balke, a. a. O. — M. Krüger, Ztschr. f. physiol. Ch. **18.** 352.

(Hirschler[1]), Salomon); das Epiguanin und die unbenannte Basis sind in dieser Richtung nicht untersucht. Wegen der ausserordentlichen Schwerlöslichkeit ihrer Verbindungen in Mineralsäuren darf die Phosphorwolframsäure als das empfindlichste Gruppenreagens betrachtet werden und eignet sich die Fällung der Basen durch diese Säure vorzüglich zur Darstellung selbst kleiner Mengen der Basen.

Wie die Phosphorwolframsäure dürfte sich auch die Phosphormolybdänsäure verhalten; wenigstens fällt sie das Xanthin, Guanin und Hypoxanthin aus sehr verdünnten Lösungen (Kerner[2]), sowie das Paraxanthin (Thudichum) und das Adenin (Kossel).

6. Pikrate. Die Pikrinsäure giebt mit den freien Basen oder Natriumpikrat mit der Verbindung der Basis mit einer Säure in Nadeln krystallisirende Verbindungen mit Paraxanthin, Guanin, Hypoxanthin, Adenin, Epiguanin und der unbenannten Basis.

Die unbenannte Basis bildet Kugeln spitzer Krystalle, das Paraxanthin verfilzte gelbe unbeständige Flitter, alle anderen Nadeln oder Prismen. Das Pikrat des Hypoxanthins und des Adenins sind ausgezeichnet durch ihre hellgelbe Farbe. Von den näher untersuchten Verbindungen scheiden sich die des Guanins und des Hypoxanthins langsam ab; diese und das Adeninpikrat sind sehr schwer löslich in kaltem Wasser, das Adeninpikrat besonders schwer löslich in einer Natriumpikratlösung. Die Pikrate werden durch die Alkalihydrate und -carbonate zersetzt (gelöst) und sind nur in neutraler oder schwach saurer Flüssigkeit beständig. Adeninpikrat löst sich leicht in einfach saurem Natriumphosphat.

7. Silberpikrate. Die Pikrate des Guanins, Hypoxanthins und Adenins geben mit Silbernitrat ausserordentlich (selbst in heissem Wasser) schwer lösliche Niederschläge.

Die Verbindungen des Guanins und des Adenins sind amorph, die des Hypoxanthins bildet kurze Nadeln.

8. Mit Ferricyankalium giebt (salzsaures) Guanin schwer lösliche vier- und sechsseitige gelbbraune Prismen, das Adenin, Xanthin und Hypoxanthin direkt keine Niederschläge.

9. Jodjodkalium giebt nach Kerner[3]) mit Guanin, Sarkin und Xanthin bei einer Verdünnung von 1 : 1000 grünlich braunrothe Trübung oder Fällung.

10. Durch Quecksilberchlorid werden alle Xanthinbasen gefällt. Die Niederschläge sind, soweit untersucht, krystallisirbare Verbindungen der Basen mit Quecksilberchlorid.

Das Epiguanin fällt erst auf Zusatz von Natriumcarbonat, das Heteroxanthin giebt mit Quecksilberchorid sogleich einen Niederschlag, das Paraxanthin wird dagegen nur langsam und erst auf Zusatz eines Ueberschusses von Reagens gefällt. Das Xanthin scheidet sich noch bei 30 000fachen Verdünnung ab (Aug. Stromeyer[4]). Auch die Harnsäure wird durch Sublimat gefällt. Das Hypoxanthin und das Adenin geben nur in Gegenwart von Salzsäure Niederschläge von

---

1) Hirschler, Ztschr. f. physiol. Ch. **11**. 25. 1887.
2) Kerner, Pflüger's Archiv **2**. 222. 1869.
3) Kerner, a. a. O. 216.
4) Aug. Stromeyer, Ann. d. Ch. u. Pharm. **134**. 49. 1865.

der angegebenen Zusammensetzung, in Abwesenheit von solcher bestehen sie aus der Basis, in welcher 1 At. H durch die einwerthige Gruppe -Hg-Cl ersetzt ist. Ein Theil der Basis (Adenin) bleibt in der frei werdenden Salzsäure in Lösung und wird erst durch Natriumcarbonat abgeschieden. — Die Sublimatverbindungen sind unbeständig.

11. Verbindungen mit Silberoxyd. Wie die Harnsäure werden alle Xanthinbasen durch ammoniakalische Silberlösung gefällt. Die Niederschläge sind nach dem Typus $X . Ag_2O$ zusammengesetzt, gallertig oder flockig, in Wasser schwer löslich, in Ammoniak nicht ganz unlöslich; die Zusammensetzung der entsprechenden Verbindung des Carnins ist unbekannt.

Von den Niederschlägen ist der des Episarkins in Ammoniak ziemlich leicht löslich, der des Xanthins in geringem Grade, der des Guanins, Hypoxanthins, Adenins und Carnins in verdünntem Ammoniak sehr schwer, der des Adenins in starkem Ammoniak beträchlich, der des Hypoxanthins auch da schwer löslich. Diese Niederschläge lösen sich, soweit sie geprüft sind, auch in Thiosulphatlösung (Kossel u. Krüger[1]). Der Hypoxanthinniederschlag wird bei der Digestion mit Ammoniak krystallinisch. — Ausser der Verbindung von der angegebenen Zusammensetzung wird von dem Adenin (gleichzeitig) auch eine Verbindung $C_5H_4AgN_5$ erhalten.

12. Verbindungen mit Silbernitrat. Kocht man diese Silberniederschläge mit (verdünnter) Salpetersäure, so gehen sie in Lösung und man erhält aus dieser die übrigens auch direkt aus ihren Bestandtheilen darstellbaren Verbindungen der Basen mit Silbernitrat, $X . AgNO_3$, die alle gut krystallisiren und sich ausser durch die Krystallform noch durch ihre verschiedene Löslichkeit in verdünnter Salpetersäure unterscheiden. Man bedient sich dieser Unterschiede in der Löslichkeit nach dem Vorgang von Neubauer[2]) zur vorläufigen Trennung der Basen.

Von den Verbindungen lösen sich nur die des Xanthins und seiner Homologen leicht in heisser Salpetersäure von 1,1 Dichte und bleiben, wenn die Lösung nicht zu concentrirt ist, auch nach dem Erkalten in Lösung (Xanthinfraction). Von den Verbindungen der anderen Basen ist die des Guanins kaum in Lösung zu bringen, die der übrigen Basen schwer und beim Erkalten scheidet sich die Basis in Verbindung mit Silbernitrat mehr oder minder vollständig wieder ab (Hypoxanthinfraction). Gegenwart von Silbernitrat erschwert die Löslichkeit.

Die Verbindungen von Hypoxanthin und Adenin enthalten mehr Silber, als der Formel $X. AgNO_3$ entspricht. Das Heteroxanthin bildet Tafeln und Prismen, das Paraxanthin makroskopische weisse Büschel, das Adenin millimeterlange Krystalle, Xanthin und Hypoxanthin Drusen von Nadeln, die unbenannte Basis glänzende mikrospische Nadeln.

Von den Verbindungen des Xanthins, Hypoxanthins und Adenins ist bekannt, dass sie beim Auswaschen mit Wasser Salpetersäure und Silber verlieren.

Durch Digestion mit ammoniakalischer Silberlösung oder durch Zusatz von Ammoniak zu der überschüssiges Silbernitrat enthaltenden Lösung in Salpetersäure

1) Kossel u. W. Krüger, Zeitschrift für physiolog. Ch. 18. 356. 1893.
2) Neubauer, Zeitschrift für anal. Ch. 6. 33. 1867.

kann die ursprüngliche Verbindung der Basen mit Silberoxyd wieder erhalten werden. Digerirt man die Verbindungen X. $AgNO_3$ mit Ammoniak allein, so bildet die Hälfte der Basis mit dem vorhandenen Silber die Verbindung X. Ag_2O, und die andere Hälfte der Basis geht, wenn sie in Ammoniak löslich ist, in Lösung.

13. Farbenreactionen.

a. Die Weidel'sche Probe. Es wird ein wenig Substanz in der Wärme in frischem Chlorwasser gelöst (der von Weidel empfohlene gleichzeitige Zusatz einer Spur Salpetersäure ist überflüssig), die Lösung im Wasserbade zur Trockne abgedampft und der weisse oder schwach gelbe Rückstand unter einer Glocke einer Ammoniakatmosphäre ausgesetzt. Xanthin (Kossel, Salomon) und seine beiden Homologen (Salomon) werden dabei dunkelrosenroth oder purpurroth, auf Zusatz von Natron- oder Kalilauge (in der Wärme) blauviolett (Salomon[1]), das Carnin verhält sich ebenso, wenn es nur mit wenig Chlorwasser verdunstet wird (Huppert).

Guanin (Krukenberg und Wagner, Salomon), Hypoxanthin (Scherer, Kossel, Salomon) und Adenin (Kossel[2]) geben diese Probe nicht, ebensowenig Episarkin, Epiguanin und die unbenannte Basis. Dagegen giebt sie auch die Harnsäure, und bedingungsweise auch das Episarkin.

Die Probe ist eine Murexidprobe (§ 33. B. 5. i.; S. 325). Erwärmt man nach E. Fischer[3]) Xanthin mit 15 proc. Salzsäure auf 50—60° und trägt chlorsaures Kali ein, so entsteht Alloxan. Dieselbe Zersetzung erfolgt beim Kochen von Xanthin mit Chlorwasser. Verdampft man einige Tropfen der Lösung vorsichtig auf dem Platinblech, so bleibt ein schwach gelblicher Rückstand, der sich bei wenig höherer Temperatur roth färbt und mit Ammoniak eine purpurfarbene Lösung liefert.

Die Probe mit Salzsäure und Kaliumchlorat ist jedoch nicht ohne Weiteres an die Stelle des ursprünglichen Verfahrens mit Chlor zu setzen. Wenigstens versagt die eigentliche Weidel'sche Probe nach Balke[4]) beim Episarkin, während beim Verdunsten dieser Basis mit Salzsäure und Chlorat ein weisser Rückstand hinterbleibt, der sich in einer Ammoniakatmosphäre intensiv violett färbt.

b. Die «Xanthinprobe» mit Salpetersäure. Man löst eine kleine Menge Substanz in heisser Salpetersäure und verdampft über freiem Feuer oder besser im Wasserbade zur Trockne. Bei Gegen-

---

1) Weidel, Ann. d. Ch. u. Pharm. **158**. 365. 1871. — Kossel, Ztschr. f. physiol. Ch. **6**. 426. — Salomon, Ber. d. chem. Gesellsch. **16**. 198; **18**. 3408; Ztschr. f. klin. Med. a. a. O. 76.

2) C. Fr. W. Krukenberg und H. Wagner, Sitzungsber. d. Würzburger physik.-med. Gesellsch. 1883. — Salomon, Du Bois' Archiv 1884. 175. — Scherer, Ann. d. Ch. u. Pharm. **112**. 267. 1859. — Salomon, Ztschr. f. physiol. Ch. **11**. 411. 1887. — Kossel, Ztschr. f. physiol. Ch. **10**. 255. 1886.

3) E. Fischer, Ann. d. Chemie **215**. 310. 1882.

4) Balke, Journ. f. prakt. Ch. [2]. **47**. 564.

wart von Xanthin (Marcet; Liebig und Wöhler; Strecker) und von Guanin (Strecker) hinterbleibt ein citronengelber Fleck, der sich in Natron- oder Kalilauge mit orangegelber Farbe löst. Dampft man die Lösung ein, so färbt sie sich violettroth und lässt einen dunkelpurpurnen Rückstand (Strecker) zurück, der bei scharfem Trocknen endlich rein indigoblau, an feuchter Luft aber wieder violett wird (Brücke[1]). Salmiak macht die Lösung wieder gelb. — Das Epiguanin und die unbenannte Basis geben diese Reaction gleichfalls, das Hetero- und das Paraxanthin dagegen nicht (Salomon), ebensowenig das Hypoxanthin (Salomon, Kossel) und das Adenin (Kossel).

Die Probe beruht beim Xanthin und Guanin auf der Bildung von Nitroxanthin, welche beim Eindampfen von Xanthin, oder Guanin mit Salpetersäure vor sich geht.

Bei gleichzeitiger Gegenwart selbst nur von Spuren Chlor oder Chlorid wird nach Stadthagen[2]) der weisse oder gelbe Rückstand, der bei weiterem Trocknen meistens röthlich wird, beim Befeuchten mit Ammoniak dunkelrosenroth bis purpurn, mit Kalilauge blauviolett (Murexidprobe).

Das Adenin und das Hypoxanthin sind die einzigen Basen, welche keine der beiden Farbenreactionen geben. Das Xanthin allein giebt dagegen die Weidel'sche und die Xanthinprobe.

c. Das Xanthin bildet, wenn man ein Körnchen desselben in eine Mischung von Chlorkalk und Natronlauge legt, einen grünen, ins Braune übergehenden Hof, das Hypoxanthin nicht.

d. Behandelt man Adenin oder Hypoxanthin mit Zink und Salzsäure und neutralisirt darnach das Filtrat oder macht es alkalisch, so färbt sich die Flüssigkeit an der Luft roth und braunroth (Kossel). Das Episarkin giebt diese Reaction nicht (Balke).

e. Adeninlösung nimmt mit Eisenchlorid eine stark rothe Färbung an (Krüger).

11. Durch die Pankreasfäulniss werden nach Baginsky Guanin, Xanthin und Hypoxanthin zerstört, das Hypoxanthin am wenigsten; nach Schindler[3]) wird dabei zunächst das Guanin in Xanthin, das Adenin in Hypoxanthin übergeführt.

12. Bei der Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl wird vom Xanthin und Guanin aller Stickstoff gefunden, durch Phosphorsäure zersetzt sich das Xanthin bei 150° unvollständig, und giebt das Guanin nur eine geringe Menge seines Stickstoffs ab, bei 230° aber allen als Ammoniak. Beim Erhitzen mit alkalischer Chlorbaryumlösung auf 150° liefert das Xanthin etwas über $^1/_4$ der bei der Zersetzung möglichen Kohlensäure, das Guanin gleichfalls nur wenig Kohlensäure und Ammoniak, bei 230° dagegen giebt das Xanthin auf das Mol. 2 Mol. Kohlensäure, das Guanin 2 Mol. Kohlensäure und 5 Mol. Ammoniak (Schöndorff[4]).

---

1) Liebig u. Wöhler, Ann. d. Ch. u. Pharm. **26**. 341. 1838. — Strecker, Ann. d. Ch. u. Pharm. **108**. 137 f. 1858. — E. Brücke, Monatshefte f. Ch. **7**. 617. 1886.

2) Stadthagen, Virchow's Archiv **109**. 395.

3) A. Baginsky, Ztschr. f. physiol. Ch. **8**. 396. — G. Schindler, Ztschr. f. physiol. Ch. **13**. 439. 1889.

4) B. Schöndorff, Pflüger's Archiv **62**. 41. 1895.

13. Beim Glühen entwickeln die Xanthinbasen den Geruch nach Blausäure oder Isonitril.

III. Eigenschaften der Xanthinbasen im Einzelnen.

I. Xanthin.



$C_5H_4N_4O_2$.

1. Das reine Xanthin krystallisirt nach Horbaczewski aus seiner heissen stark verdünnten Lösung (1 : 2000) in wenig Alkali nach dem Uebersättigen mit Essigsäure in makroskopischen farblosen glänzenden, aus dünnen grossen rhombischen Platten zusammengesetzten Drusen. Bei schneller Krystallisation scheiden sich, namentlich aus der Lösung nicht ganz reinen Xanthins dem unreinen Leucin ähnliche, radiär und concentrisch gestreifte Kugeln ab, auch wetzsteinförmige, der Harnsäure zum Verwechseln ähnliche Krystalle. (Abbildung nach einer Zeichnung von Horbaczewski.) Aus concentrirten wässrigen Lösungen erhält man

Fig. 4.



das Xanthin amorph als Pulver, in Flocken, Häuten und Krusten; manchmal trübt sich die kochend bereitete Lösung milchig und klärt sich selbst bei wochenlangem Stehen nicht vollständig. Das schwefelsaure Xanthin hinterlässt beim Behandeln mit Wasser Xanthin in der Form der ursprünglichen Krystalle (rhombische Tafeln). Beim Stehen reinsten Xanthins in Kalilauge setzen sich neben doppelt kohlensaurem Kali deutlich krystallinische Plättchen ab, die sich durch Wasser vom Kalisalz trennen lassen (Strecker[1]).

---

[1]) J. Horbaczewski, Ztschr. f. physiol. Ch. **23**. 226. 1897. — Strecker, Ann. d. Ch. u. Pharm. **108**. 143. 1858.

2. Das krystallisirte Xanthin enthält 1 Mol. Krystallwasser, welches es erst bei 125—130° abgiebt. Das amorphe ist wasserfrei. Beim Erhitzen sublimirt das Xanthin ohne zu schmelzen unter Entwicklung von Blausäure zum Theil unzersetzt.

3. Es löst sich in ungefähr 13000—14000 Theilen kaltem und 1300—1400 Theilen heissem Wasser; in verdünntem Alkohol löst es sich schwerer, in einem Ueberschuss von Ammoniak oder Alkalihydrat viel leichter als in Wasser; auch Piperazinlösung löst es wie das Hypoxanthin nach Salkowski[1]) leicht. Verdünnte Säuren lösen es schwer und halten es schwer in Lösung. Nach Stadthagen lässt eine mit Salzsäure übersättigte Lösung bei mehrtägigem Stehen einen kreidigen Niederschlag von Xanthin ausfallen. Zu seiner Lösung bedarf es eines relativ grossen Ueberschusses von Säure; nach Wulff lösen 50 cc Salzsäure von ungefähr 4% 0,3 g Xanthin in der Kälte und 0,4 g in der Wärme durchaus nicht vollständig; selbst Lösungen mit nur 0,1—0,2% Xanthin in 10 proc. Salzsäure geben binnen 1—3 Tagen einen Niederschlag. In concentrirter Schwefelsäure löst es sich nach Liebig u. Wöhler ohne beim Verdünnen mit Wasser sogleich einen Niederschlag zu geben; bei längerem Stehen der mit 4 Vol. Wasser verdünnten Lösung scheidet sich nach Horbaczewski jedoch auch hier eine geringe Menge Xanthin ab. — Beim Sättigen einer Xanthinlösung mit Salmiak fällt nach Hopkins[1]) Xanthin aus.

4. Eine warm gesättigte Lösung von Xanthin in 10 proc. Ammoniak liefert beim Erkalten äusserst feine, häufig zu Sternen verwachsene Nadeln von Xanthin-Ammoniak (Staedeler, Strecker). Löst man Xanthin in sehr wenig Natronlauge, so setzen sich nach Balke beim Stehen, oft zu Drusen vereinigte, Nädelchen von Xanthin-Natron $C_5H_3NaN_4O_2$, H_2O ab, welche das Wasser erst bei 190—200° abgeben. Die Krystalle lösen sich mit alkalischer Reaction ziemlich leicht in Wasser und lassen sich umkrystallisiren, wobei sie eine theilweise Zersetzung erleiden und sich das Xanthin in gelatinösen Flocken abscheidet. Die Verbindung löst sich im Gegensatz zum Heteroxanthin und Paraxanthin sofort in concentrirter Lauge (Salomon), wie in verdünnter; aus der alkalischen Lösung kann die Verbindung durch Einleiten von Kohlensäure wieder gefällt werden (Balke[2]), wird aber die Behandlung mit Kohlensäure bis zur Bildung von Bicarbonat fortgesetzt, so scheidet sich freies Xanthin ab (Liebig u. Wöhler[1]). Durch Salmiak wird aus der Lösung von Xanthin in Kaliumhydrat kein Xanthin gefällt, erst beim Verdunsten scheidet sich das Xanthin ab (Liebig u. Wöhler). Gegen saure Salze, einschliesslich des Bicarbonats, verhält sich die alkalische Xanthinlösung wie die des Heteroxanthins und des Paraxanthins (II. 4.). — Saurer sowie schwach alkalischer Harn löst nach Bence Jones Xanthin, ohne dass es sich bei mässigem Verdunsten wieder abscheidet.

Eine Lösung von Xanthin in Ammoniak giebt mit einer ammoniakalischen Chlorcadmium- oder Chlorzinklösung einen weissen, in viel Ammoniak löslichen Niederschlag. Essigsaures Blei liefert mit der ammoniakalischen Lösung weisse Flocken, die sich beim Stehen öfters in glänzende Krystallschuppen verwandeln (Strecker). Löst man nach E. Fischer Xanthin in der zur Bildung des neutralen Salzes $C_5H_2N_4O_2Na_2$ nöthigen Menge Natronlauge und versetzt heiss mit essigsaurem Blei, so entsteht ein weisser krystallinischer Niederschlag (von $C_5H_2N_4O_2Pb$).

---

1) Salkowski, Pflüger's Archiv **56**. 349. 1894. — Stadthagen, Virchow's Archiv **109**. 401. — C. Wulff, Ztschr. f. physiol. Ch. **17**. 636. 1893. — Liebig u. Wöhler, Ann. d. Ch. u. Pharm. **26**. 340. 1838. — J. Horbaczewski, Ztschr. f. physiol. Ch. **18**. 344. — F. Gowland Hopkins, Journ. of Pathol. and Bacteriol. 1893. 452.

2) Staedeler, Ann. d. Ch. u. Pharm. **111**. 32 u. 37. — Strecker, Ann. d. Ch. u. Pharm. **118**. 167. — P. Balke, Journ. f. prakt. Ch. [2] **47**. 559. 1893. — G. Salomon, Virchow's Archiv **125**. 559.

5. Salzsaures Xanthin, $C_5H_4N_4O_2, HCl$, kuglige und warzenförmige Anhäufungen mikroskopischer Krystalle, die aus rauhen Oktaëdern mit abgestumpften Seitenkanten und spitzen rhombischen Plättchen bestehen; löslich in 153 Theilen (salzsäurehaltigem) Wasser (Strecker). Das Salz zersetzt sich selbst in salzsaurer Lösung leicht unter Abscheidung von Xanthin (3). — Das Platinsalz bildet gelbe, leicht lösliche Nadeln. — Das Nitrat besteht aus feinen zu gewimperten Kugeln zusammengesetzten Krystallen (Strecker). — Aus der heissen Lösung in nicht völlig concentrirter Schwefelsäure krystallisirt das Sulphat $C_5H_4N_4O_2, H_2SO_4, H_2O$ in perlmutterglänzenden rhombischen Tafeln (Strecker); die Lösung in verdünnter Schwefelsäure hinterlässt beim Verdunsten mikroskopische Nadelbüschel. Das Salz zersetzt sich mit Wasser vollständig unter Hinterlassung des Xanthins in der Form der ursprünglichen Krystalle. — Das Pikrat ist löslich. — Eine mit Salpetersäure angesäuerte Xanthinlösung giebt nach Kerner[1] mit Phosphormolybdänsäure in einer Verdünnung von 1 : 2000 sogleich einen hellorangegelben Niederschlag, in einer Verdünnung von 1 : 10 000 sogleich noch eine leichte Trübung, die sich beim Stehen als schwacher Niederschlag absetzt. Die Niederschläge lösen sich in warmer verdünnter Salpetersäure und krystallisiren als regelmässige mikroskopische zimmtfarbene Würfel wieder aus.

6. Salpetersaures Xanthin-Silber, $C_5H_4N_4O_2, AgNO_3$, fällt als flockiger Niederschlag beim Versetzen einer Lösung von salpetersaurem Xanthin mit salpetersaurem Silber, scheidet sich auch aus einer Lösung von Xanthin-Silber in heisser verdünnter Salpetersäure aus, aber um so langsamer und unvollständiger, je stärker die Säure und je weniger Xanthin in Lösung war. Es besteht aus mikroskopischen Drusen zarter gekrümmter Nadeln (Taf. I, Fig. 6, linke Hälfte). Beim Auswaschen verliert es alle Salpetersäure und einen Theil des Silbers (Strecker). — Der gallertige Niederschlag, welchen Xanthin mit ammoniakalischer Silberlösung giebt, ist in Ammoniak in geringem Grade löslich. — Xanthin giebt auch mit salpetersaurem Quecksilber-Oxyd oder -Oxydul Niederschläge. Alle Quecksilber enthaltenden Xanthinniederschläge scheiden beim Stehen metallisches Quecksilber ab.

7. Fügt man einer Lösung von Xanthin in fixem Alkali Chlornatron oder Chlorkalk hinzu, so entwickelt sich etwas Stickstoff und die Lösung wird nach einander blau, braun und zuletzt gelb (Liebig u. Wöhler[2]). Bringt man in eine Mischung von Chlorkalk und Natron (in einem Uhrglas) eine Probe von Xanthin, so bildet sich um die Körnchen zuerst ein dunkelgrüner, bald ins Braune übergehender Hof, der schliesslich wieder verschwindet (Hoppe-Seyler). Die Grünfärbung tritt jedoch nur dann deutlich hervor, wenn das Xanthin schon ziemlich rein ist (Salkowski).

8. Gegen heisse verdünnte Salpetersäure ist das Xanthin beständig (Wulff[3]).

9. Wird es mit rauchender Salzsäure über 200° erhitzt, so zerfällt es nach Schmidt[4]) in Glycocoll, Ammoniak, Kohlensäure und Ameisensäure nach

$$C_5H_4N_4O_2 + 6\,H_2O = C_2H_5NO_2 + 3\,NH_3 + 2\,CO_2 + H\,.\,COOH.$$

10. Xanthinblei giebt mit Jodmethyl Theobromin (E. Fischer).



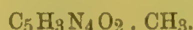
1) Strecker, Ann. d. Ch. u. Pharm. **108**. 146. 1858. — Kerner, Pflüger's Archiv **2**. 222.

2) Liebig u. Wöhler, a. a. O.

3) C. Wulff, a. a. O. 639.

4) E. Schmidt, Ann. d. Ch. **217**. 308. 1883.

II. Heteroxanthin.[1])



$C_5H_3N_4O_2 . CH_3$.

Von dem Monomethylxanthin, welches nach Bondzyński u. Gottlieb sowie nach Albanese beim Hund nach Verfütterung von Theobromin oder Caffeïn im Harn auftritt, haben Bondzyński u. Gottlieb[2]) nachgewiesen, dass es nicht blos denselben Schmelzpunkt besitzt wie das von Salomon im Harn aufgefundene, sondern dass es sich, wie dieses, beim Erhitzen mit Salzsäure unter Bildung von Sarkosin zersetzt. Damit ist der Beweis von der Identität beider Monomethylxanthine erbracht.

1. Das reine Heteroxanthin krystallisirt aus heissem Wasser in glänzenden Nadeln (Albanese), in halbcentimeterlangen Nadeln oder in längeren oder kürzeren mikroskopischen, zu stachligen Kugeln und dichten Fächern angeordneten Säulen (Bondzyński und Gottlieb). Es kann auch bei schnellem Eindampfen noch etwas gefärbter Substanz (B. u. G.) amorph in Krusten und Knollen ausfallen, kann aber bei langsamer Ausscheidung dann mohnkorngrosse Aggregate bilden und sich bei längerem (24 st.) Verweilen unter Wasser bisweilen in die beschriebenen Krystalle verwandeln (Salomon). Die Flocken, in welchen das H. aus der Natronlösung auf Zusatz von Essigsäure ausfällt, verwandeln sich bald in Krystalle (B. u. G.). Aus ammoniakalischer Lösung erhält man (das Ammonsalz?) blättrige Krusten (P.) oder gleichseitige sphärische Dreiecke (Balke[3]).

2. Schmilzt ungefähr bei 341—342^0 unter Sublimation und Zersetzung (B. u. G.); verflüchtigt sich auf dem Platinblech unter Entwicklung von Blausäure (S., A.)

3. Löslich in 1592 cc Wasser von 18^0 und in 109 cc siedendem, in 7575 cc absolutem Alkohol bei 17^0 und in 2250 cc siedendem (B. u. G.), unlöslich in Aether, Cloroform löst die reine Basis nicht nachweisbar, die unreine in geringer Menge und bedeutend schwieriger als Theobromin (B.); geht aus der wässrigen Lösung leicht in Chloroform über (A.). Phenol nimmt bei 45^0 nur 2$^0/_0$ der Substanz auf (B.). — Leicht löslich in Ammoniak und in Alkalien, aus der Lösung schon durch Kohlensäure fällbar (S., A.).

4. Das Natriumsalz erhält man nach Salomon[4]) durch Zusatz von Natronlauge zu der concentrirten Lösung der Basis (eines Salzes derselben) in makroskopischen wasserklaren vollkommen luftbeständigen nicht hygroskopischen Krystallen. Diese bilden viereckige schiefwinklige, oft sehr dünne Tafeln. Bedeckt man einzelne Knollen oder Krystallbüschel des Chlorids mit wenig kalter Natronlauge, so überziehen sie sich sofort mit einem dichten schnell wachsenden Krystallrasen. Charakteristisch sind Zwillingskrystalle: dachförmig zugespitzte, von einem feinen Längsstrich durchzogene prismatische Gestalten. Abstumpfungen, Durchwachsungen, Büschelbildungen sind häufig. Nach Kossel bilden die Tafeln Winkel von 79 und 101^0; sie sind doppelbrechend, ihre Auslöschrichtungen bilden mit den längeren Seiten des Vierecks Winkel von 14,6 und 75,4^0. Die Krystalle trüben sich in mässiger Wärme unter Krystallwasserverlust, schmelzen aber erst über 300^0. Sie lösen sich nicht in concentrirter Lauge, aber mit alkalischer Reaktion etwas schwer in Wasser, leichter in der Wärme; sie lösen sich auch in Mineralsäure und in Ammoniak, nach dem Verdunsten des Ammoniaks bleibt die Verbindung unverändert zurück. Beim Neutralisiren ihrer Lösung mit Mineralsäuren oder

---

1) G. Salomon, a. a. O.

2) St. Bondzyński u. R. Gottlieb, Berichte der chem. Gesellsch. **28**. 1113. 1895; Archiv f. exper. Pathol. **36**. 45. — M. Albanese, Archiv f. exper. Pathol. **35**. 449. 1895. — Bondzyński u. Gottlieb, Archiv f. exper. Pathol. **37**. 385. 1895.

3) P. Balke, Journ. f. prakt. Ch. [2] **47**. 545. 1893.

4) G. Salomon, Virchow's Archiv **125**. 556. 1891.

organischen Säuren, auch mit Kohlensäure, scheidet sich das H. amorph oder in krystalloiden Knollen aus; saure Salze (Kalium- und Natriumpyrophosphat, zweifach saures Kaliumphosphat, Borax, saures weinsaures Ammon, saures Kalium- und Natriumcarbonat) fällen die Basis gleichfalls; in der Lösung oder Aufschwemmung eines dieser Salze trüben sich Krystalle des H.-Natrons an der Oberfläche und verwandeln sich in amorphe knollige Massen, welche die noch unveränderte Verbindung einhüllen. Frischer Harn zerlegt die Krystalle schnell, wie die Lösung eines sauren Salzes. Ammonsalze scheiden die reine Basis ab (S., B. u. G.). — Löst man nach Bondzyński und Gottlieb die Basis in heisser überschüssiger Natronlauge (2 At. Na auf 1 Mol.), so krystallisiren centimeterlange rhombische Tafeln und Säulen aus, $C_6H_5NaN_4O_2, 4H_2O$, welche über Schwefelsäure verwittern und ihr Krystallwasser vollständig bei 100—105° verlieren.

Auch die Kaliumverbindung krystallisirt gut, besitzt einen hohen Schmelzpunkt, löst sich leichter als das Natriumsalz und zersetzt sich ebenso wie dieses (G.). — Chlorbaryum giebt mit der Natronverbindung einen gallertigen Niederschlag, aus dessen Lösung in heissem Wasser sich Kugeln und Rosetten der Verbindung $(C_6H_5N_4O_2)_2Ba$ (bei 100—105°) ausscheiden; man erhält die Krystalle auch direkt aus der Basis und Baryumhydrat (B. u. G.). — Während Bleizucker die Basis leicht löst, giebt Bleiessig mit ihr, namentlich bei Zusatz einer Spur Ammoniak, einen starken Niederschlag (A.). — Mit Kupferoxydul giebt sie eine schwer lösliche oder unlösliche Verbindung (Balke, B. u. G.)

5. Von den Verbindungen mit Säuren ist das Chlorid ausgezeichnet durch seine verhältnissmässige Schwerlöslichkeit und vollkommene Krystallisationsfähigkeit. Die wasserhellen, meist in Büscheln angeordneten Krystalle erreichen eine Länge bis 1 cm. Sie werden in Wasser sehr bald weiss und undurchsichtig und zersetzen sich schliesslich unter Abscheidung von Heteroxanthin, schneller in der Wärme (S., A.). Ein analysenreines Salz zu erhalten, gelang B. u. G. nicht, es verliert schon im Wasserbad Salzsäure. Platinchlorid giebt mit der Lösung des Chlorids makroskopische Krystalle des Platinsalzes (S.). In einer mit 2 Vol. Wasser verdünnten Schwefelsäure löst sich die Basis nach Bondzyński und Gottlieb[1]) leicht und die Lösung scheidet das Sulphat $C_6H_6N_4O_2 . H_2SO_4$ in langen seidenglänzenden Nadeln ab. Durch Wasser wird das Salz unter Abscheidung der Basis zersetzt, durch Alkohol wird es aber aus der schwefelsauren Lösung in Nadeln ausgefällt; es lässt sich mit Alkohol und Aether waschen, ohne Zersetzung zu erleiden. — Mit Pikrinsäure giebt die Basis kein schwer lösliches Salz (S.). — Phosphorwolframsäure fällt die Basis (B., A.)

6. Quecksilberchlorid schlägt nach Salomon[2]) das Heteroxanthin, im Gegensatz zum Paraxanthin, sofort nieder. Auch Mercurinitrat fällt es (A.). — Durch salpetersaures Silber wird die Basis sowohl aus salpetersaurer wie aus ammoniakalischer Lösung flockig gefällt; der Niederschlag löst sich beim Erwärmen schon in sehr verdünnter Salpetersäure und aus der nicht zu concentrirten Lösung setzen sich sehr gut ausgebildete tafelförmige und prismatische Krystalle von salpetersaurem Heteroxanthin-Silber ab (S.) Der mit ammoniakalischer Silberlösung erhaltene Niederschlag ist nach B. u. G. in Ammoniak unlöslich und besitzt nach dem Trocknen bei 120—125° die Zusammensetzung $C_6H_6N_4O_2, Ag_2O$; nach A. dagegen löst sich der Niederschlag leicht in Ammoniak. — Kupferacetat giebt beim Kochen einen schmutzig weissen Niederschlag (A.).

7. Giebt die Xanthinprobe nicht, dagegen eine intensive Weidel'sche Reaction (S., B. u. G., A.), mit Salzsäure und einer Spur Kaliumchlorat besser als mit Chlor oder Brom; der rothe Rückstand wird mit Kalilauge violett (A.).

---

[1]) Bondzyński u. Gottlieb, Arch. f. exper. Pathol. **37**. 388.
[2]) Salomon, Berichte der chem. Gesellsch. **18**. 3408. 1885; Virchow's Archiv **125**. 555.

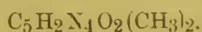
8. Zersetzt sich nach Krüger und Salomon[1]) beim Erhitzen mit rauchender Salzsäure auf 180—200⁰ zu Sarkosin, Ammoniak, Kohlensäure und Kohlenoxyd nach



$$C_6H_6N_4C_2 + 5\,H_2O = CH_3 . HN . CH_2 . COOH + 3\,NH_3 + 2\,CO_2 + CO.$$

9. Das Silbersalz liefert mit Methyljodid Caffeïn (B.).

III. Paraxanthin.[2])



$C_5H_2N_4O_2(CH_3)_2$.

Das Paraxanthin ist dem Theobromin, dem Theophyllin und dem Dioxydimethylpurin isomer.

1. Farblose glasglänzende, meist sechsseitige Tafeln, die 3—4 mm breit und 2—4 cg schwer werden (Fig. 5). Ganz concentrirte Lösungen erstarren zu einem

Fig. 5.



Brei langer farbloser durcheinander gewirrter Nadeln, welche trocken den Seidenglanz des Tyrosins besitzen.

2. Krystallisirt nach Salomon[3]) bei schneller Abscheidung aus heisser concentrirter Lösung wasserfrei in Nadeln. Kann auch wasserhaltig krystallisiren. Die prismatischen und tafelförmigen Krystalle der Abbildung sind Gemenge beider Formen. Die wasserhaltigen Krystalle verlieren das Wasser bei 110⁰. Es subli-

---

1) Krüger u. Salomon, Ztschr. f. physiol. Ch. 21. 169.

2) G. Salomon, a. a. O.

3) Salomon, Ztschr. f. physiol. Ch. 15. 319. 1891.

mirt bei 170—180°, schmilzt zwischen 250 u. 270° anscheinend ohne Zersetzung und erstarrt beim Erkalten glasig. In noch höherer Temperatur entwickelt es nach Isonitril riechende Dämpfe, schwärzt sich und verbrennt.

3. In kaltem Wasser schwer löslich, viel leichter in heissem; die Lösungen reagiren neutral. Nach Salomon löst es sich in der Kälte weder in Alkohol, noch in Aether; nach Thudichum ist es in heissem Alkohol löslich.

4. Die schwer lösliche Natriumverbindung erhält man nach Salomon[1]) auf dieselbe Weise wie die des Heteroxanthins (II. 4) in rechtwinkligen, meist länglichen Tafeln und Prismen. Ein Paraxanthinkrystall wird in einem Tröpfchen Natronlauge oder Sodalösung sofort weiss und undurchsichtig und löst sich, während gleichzeitig das Natronsalz auskrystallisirt. Die Krystalle sind nach Kossel doppelbrechend, ihre Auslöschrichtungen liegen den Seiten des Rechtecks parallel. Das Paraxanthin-Natron besitzt dieselben allgemeinen Eigenschaften wie das Heteroxanthin-Natron, löst sich aber etwas leichter in Wasser. In Lösungen oder Aufschwemmungen saurer Salze schmilzt das Paraxanthin-Natron langsam ein, während zugleich das freie Paraxanthin in seinen typischen Formen auskrystallisirt. — Das Kaliumsalz verhält sich wie das Natriumsalz, nur ist es leichter löslich. — Mit Kupferoxydul vereinigt sich das Paraxanthin zu einer schwerlöslichen oder unlöslichen Verbindung.

5. Das Chlorid des Paraxanthins krystallisirt auch aus sehr concentrirten Lösungen nur schwer. — Das Platinchlorhydrat krystallisirt leicht in orangefarbenen Nadeln. — Das Nitrat ist unbeständig. — Mit Pikrinsäure giebt salzsaures Paraxanthin einen reichlichen Niederschlag von dicht verfilzten gelben Flittern; das Salz zersetzt sich aber beim Auflösen in Wasser und beim Eindampfen.

6. Quecksilberchlorid oder Merkurinitrat fällen nach Salomon[2]) das Paraxanthin im Gegensatz zum Heteroxanthin erst nach längerer Zeit und erst bei Zusatz von überschüssigem Reagens. Sublimat ruft so ein Haufwerk farbloser Prismen hervor, die sich leicht in heissem Wasser lösen, sich bei mässigem Erwärmen unter Verlust des Krystallwassers trüben und bei starkem Erhitzen übelriechende ekelerregende Dämpfe entwickeln. — Silbernitrat fällt die Lösung des Paraxanthins in Salpetersäure oder Ammoniak flockig und gallertig, concentrirte Lösung giebt mit salpetersaurem Silber eine klare Gallerte. Die Lösungen der Niederschläge in warmer Salpetersäure setzen beim Erkalten makroskopische weisse seidenglänzende Krystallbüschel von salpetersaurem Paraxanthin-Silber ab.

7. Giebt die Weidel'sche Probe, aber nicht die Xanthinreaction.

IV. Guanin.



$C_5H_5N_5O$.

1. Aus seinen concentrirten sauren oder alkalischen Lösungen fällt es beim Uebersättigen amorph aus. Krystallisirt erhält man es nach Horbaczewski[3]), wenn man eine alkalische heisse sehr verdünnte Lösung (1 : 2000) mit $^1/_3$ Vol. Alkohol vermischt und darauf mit Essigsäure übersättigt. Die Krystalle bestehen aus kugligen oder garbenförmigen dichten, dem Kreatininchlorzink ähnlichen Aggregaten von Prismen und Pyramiden. Trocken stellen sie ein weisses mattes Krystall-

---

1) Salomon, Virchow's Archiv **125**. 534. 1891.

2) Salomon, Ztschr. f. klin. Med. Suppl. Bd. **7**. 73; Virchow's Archiv **125**. 555.

3) J. Horbaczewski, Ztschr. f. physiol. Ch. **23**. 229. 1897.

pulver dar. Aus einer ebenso verdünnten aber alkoholfreien Lösung fällt das Guanin nicht so schön krystallisirt aus. Abbildung nach Horbaczewski.

2. Das krystallisirte Guanin ist wie das amorphe wasserfrei. Unlöslich in Wasser. Wenig löslich in Ammoniak, reichlicher in der Wärme als in der Kälte; nach Wulff bleiben in 100 cc 1 proc. Ammoniak 9 mg Guanin gelöst, in 100 cc 3 proc. Ammoniak 15 mg, in 5 proc. 19 mg. Unlöslich in Piperazinlösung (Salkowski[1]). Leicht löslich in Alkalihydrat. Auch löslich in concentrirten Mineralsäuren, jedoch nur bei grossem Ueberschuss derselben, dagegen nicht in Ameisensäure und in Essigsäure (Neubauer u. Kerner).

3. Aus einer bei 30—35° bereiteten Lösung von Guanin in concentrirtem Ammoniak setzen sich nach Drechsel beim freiwilligen Verdunsten mehr oder minder deutliche, anscheinend rhombische Tafeln und Nadeln ab. Bei der Digestion

Fig. 6.



von Guanin mit Ammoniak erhielt Kossel eine bei 110° beständige Verbindung von Guanin-Ammoniak $C_5H_5N_5O \cdot NH_3$. — Der Verbindung mit Natron ertheilt Unger die Formel $C_5H_5N_5O, Na_2O, 3\,H_2O$; sie wird durch Kohlensäure und schon durch Wasser zersetzt und löst sich nach Salomon[2]) im Gegensatz zu den Natriumverbindungen des Hetero- und Paraxanthins in concentrirter Lauge. Eine Lösung von Guanin in Lauge giebt mit Salmiak sofort einen Niederschlag, sobald das Alkalihydrat durch den Salmiak übersättigt ist (Huppert). — In Gegenwart von Kupfersulphat wird das Guanin durch Bisulphit in der Kälte und

---

1) C. Wulff, Ztschr. f. physiol. Ch. **17**. 505. 1892. — Salkowski, Pflüger's Archiv **56**. 349. 1894.

2) Drechsel, Journ. f. prakt. Ch. [2] **24**. 44. 1881. — Kossel, Ztschr. f. physiol. Ch. **7**. 17. 1882. — Unger, Ann. d. Ch. u. Pharm. **59**. 68. 1846. — Salomon, Virchow's Archiv **125**. 559.

in der Wärme, durch Thiosulphat in der Kälte sofort als Kupferoxydulverbindung gefällt (Krüger[1]).

4. Das Guanin ist zweisäurig. Aus der Lösung des Guanins in verdünnter Salzsäure krystallisirt das Chlorid $C_5H_5N_5O, HCl, 2 H_2O$ (Scherer) in makroskopischen feinen langen vierseitigen strahlenförmig angeordneten Nadeln, die in Berührung mit Wasser sofort in Salzsäure und Guanin zerfallen, verliert in höherer Temperatur die Salzsäure vollständig (Wulff). — Das Chloroplatinat $C_5H_5N_5O, HCl, PtCl_4$ (?) bildet pommeranzengelbe schwer lösliche Nadeln. — Ein Aurochlorid wie das Adenin giebt das Guanin nach Kossel und nach Wulff nicht. — Das Nitrat $C_5H_5N_5O, HNO_3, 1\,^1/_2 H_2O$ krystallisirt aus der heissen Lösung von Guanin in verdünnter Salpetersäure beim Erkalten in langen sehr feinen haarförmigen verfilzten Nadeln (Unger), beim Verdunsten der Lösung in schönen sechsseitigen Plättchen (Pecile) oder in vier- und sechsflächigen Prismen (Kossel). — Das Sulfat $C_5H_5N_5O, H_2SO_4, H_2O$ setzt sich aus der Lösung des Guanins in verdünnter heisser Schwefelsäure in oft Centimeter langen Nadeln ab; zerlegt sich mit Wasser. — Das Pyrochromat $(C_5H_5N_5O)_2, H_2C_2O_7$ scheidet sich aus einer Lösung von salzsaurem Guanin auf Zusatz von Kaliumpyrochromat langsam in glänzenden orangefarbenen mikroskopischen Prismen mit meist abgestumpften Endflächen aus, ebenso aus einer Lösung von Guanin in heisser Chromsäurelösung. Zersetzt sich mit Wasser, schneller in der Wärme. Verliert bei 100° (gegen $^1/_2$ Mol.) Wasser. Zerstäubt auf dem Platinblech unter Funkensprühen (Capranica, Wulff). — Metaphosphat $C_5H_5N_5O, HPO_3$. Wasserhaltig. Versetzt man nach Pohl salzsaures Guanin mit Natriummetaphosphat oder nach Liebermann[2]) eine Lösung von Guanin in Natronlauge mit Metaphosphorsäure, so wird die Flüssigkeit selbst bei äusserster Verdünnung der Guaninlösung sofort milchig und giebt nach längerer Zeit einen flockigen Niederschlag, der anfangs durchs Filter geht und es dann verstopft. Entsteht auch auf Zusatz von Metaphosphorsäure zu einer sauren Guanin-Lösung. Aeusserst feine Häute. Mehr oder weniger krystallinisch fällt das Salz aus siedend heisser verdünnter Lösung. Leicht löslich in Alkalien, schwer, der Löslichkeit des Guanins entsprechend, in Ammoniak, beim Erwärmen löslich in verdünnter Säure. Die Lösung in Lauge giebt beim Uebersättigen mit Säure solang einen Niederschlag des ursprünglichen Salzes, als die Metaphosphorsäure nicht in Orthophosphorsäure übergegangen ist. Concentrirte Salzlösungen, namentlich Magnesiumsulphat lösen es in geringem Grade, sie verlangsamen daher die Abscheidung. Die Fällung ist in allen Fällen eine so vollständige, dass Pikrinsäure im Filtrat keinen, Silberlösung einen geringen Niederschlag giebt. Trocken weisses Pulver oder (die amorphe Verbindung) feste porzellanartige Masse. Verbrennt äusserst schwer unter Hinterlassung von viel Kohle (Wulff). — Pikrat $C_5H_5N_5O . C_6H_2(NO_2)_3OH, H_2O$ (Wulff). Kalt gesättigte Pikrinsäurelösung scheidet aus salzsaurem Guanin allmählich lockere orangegelbe Flocken, welche sich unter dem Mikroskop als pinsel- und farrnkrautähnliche Bündel sehr feiner Nadeln erweisen, oder sparrige Drusen grosser Nadeln ab; aus Lösungen mit überschüssiger Salzsäure setzt sich zuerst Pikrinsäure ab (Capranica). Die Ausscheidung erfolgt noch bei einer Verdünnung von 1 : 30 000, aber erst nach längerer Zeit. Aus alkalischer Lösung fällt die Pikrinsäure das Guanin auf Zusatz von Essigsäure. Reichlich löslich in heissem Wasser; zersetzt sich in Berührung mit Wasser und mit Alkohol (Wulff). Lufttrocken goldgelb, verfilzt, seidenglänzend. Wird beim Erhitzen dunkler, fast orangeroth, nimmt beim Erkalten die ursprüngliche Farbe wieder an. Verliert bei 120° mit dem Krystallwasser seinen Glanz und wird hellgelb, beginnt sich bei 190° zu zersetzen und verkohlt. Verbrennt mit Flamme unter Hinterlassung von viel Kohle (Wulff). — Silberpikrat

---

1) Krüger, Ztschr. f. physiol. Ch. 18. 354. 355.

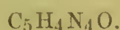
2) Wulff, Ztschr. f. physiol. Ch. 17. 479. u. 508. — Capranica, Ztschr. f. physiol. Ch. 4. 233. 1880. — Wulff, a. a. O. 477. — Pohl, Ztschr. f. physiol. Ch. 13. 296. — Liebermann, Centralbl. f. d. med. Wiss. 1889. 226.

$C_5H_4AgN_5O$. $C_6H_2(NO_2)_3OH$, $1^1/_2H_2O$. Eine siedend heisse verdünnte Pikratlösung (G. in Mineralsäure und überschüssiger Pikrinsäure) giebt mit Silbernitrat (bei Abwesenheit von Salzsäure) sofort einen citronengelben voluminösen amorphen Niederschlag. In heissem Wasser sehr schwer löslich, in kaltem nahezu unlöslich. Wasser entzieht dem Salze etwas Pikrinsäure, Ammoniak leicht fast alle Pikrinsäure (Wulff). — Ferricyanwasserstoffsaures G. $(C_5H_5N_5O)_4$. $H_3Fe(CN)_6$, $8H_2O$ (Wulff). Ferricyankalium fällt aus salzsaurem G. in einiger Zeit mikroskopisch kleine, glänzende, gelbbraune, schwer lösliche Krystalle (Capranica), vier- oder sechsseitige Prismen mit zwei Endflächen, von denen die eine bedeutend grösser ist. Verliert das Krystallwasser langsam bei 120⁰—130⁰ und wird dabei dunkelgrün (Wulff). — Ferrocyanwasserstoffsaures G. bildet fast farblose Krystalle (W.). — Nitrosoferricyanwasserstoffsaures G. $(C_5H_5N_5O)_2$. $H_2(CN)_5NOFe$, $1^1/_2H_2O$. Salzsaures G. giebt mit Nitroprussidnatrium nach einiger Zeit ziemlich grosse glänzende hellziegelrothe Krystalle, mikroskopische vierseitige Säulen mit zugespitzten Enden (W.).

5. Guanin-Chlorzink $(C_5H_5N_5O . HCl)_2ZnCl_2$, $3H_2O$, entsteht nur beim Eintragen von salzsaurem Guanin in warmes syrupdickes Chlorzink. Weisses Krystallmehl oder schöne wasserhelle Krystalle, löslich in Salzsäure und Natronlauge, wenig in Wasser. — G.-Chlorcadmium, perlglänzende weisse, in Salzsäure und in Wasser lösliche Plättchen bei Versetzen von salzsaurem Guanin mit überschüssigem Chlorcadmium. — G.-Quecksilberchlorid $C_5H_5N_5O$, $HgCl_2$, $2^1/_2H_2O$, weisses Krystallmehl von mikroskopischen kurzen Prismen, beim Zusatz wässriger Sublimatlösung zu salzsaurem Guanin, leicht löslich in Säuren und in Cyankalium. Bei Verwendung alkoholischer Sublimatlösung fällt $(C_5H_5N_5O . HCl)_2HgCl_2$, H_2O (Neubauer u. Kerner). — Jodwismuth-G. $C_5H_5N_5O . HJ$, $2BiJ_3$, $2H_2O$. G. wird selbst aus sehr verdünnter, saurer (jodwasserstoffsaurer) Lösung durch Jodwismuthkalium gefällt. Mikroskopisch feine ziemlich lange rothe Nadeln, lufttrocken lockere tiefrothe Masse. In der warmen Mutterlauge löslich, zersetzt sich mit Wasser und färbt sich dabei ziegelroth. Wird schon unterhalb 100⁰ unter Wasserverlust schwarzviolett (W.). — Salpetersaures Guanin-Silber $C_5H_5N_5O$, $AgNO_3$ fällt aus einer Lösung von Guanin in Salpetersäure auf Zusatz von Silbernitrat, löst sich in heisser salpetrigsäurefreier Salpetersäure von 1,1 Dichte nur wenig und fällt bald wieder krystallinisch aus; beim Kochen mit starker reiner Salpetersäure löst es sich vollständig und scheidet sich beim Erkalten fast vollständig wieder ab (Strecker, Pecile).

6. Bildet beim Schmelzen mit Kali keine Blausäure (Kossel). — Wird durch salpetrige Säure in Xanthin übergeführt, durch Erhitzen mit concentrirter Salzsäure nach Wulff[1]) in Glycocoll, Ammoniak, Kohlensäure und Ameisensäure zersetzt nach $C_5H_5N_5O + 7H_2O = C_2H_5NO_2 + 4H_3N + 2CO_2 + HCOOH$.

V. Hypoxanthin.


$C_5H_4N_4O$.

Synon. Sarkin.

1. Reines H. krystallisirt nicht in Nadeln, sondern scheidet sich immer am Boden und an der Wand des Gefässes oder auf der Oberfläche der Flüssigkeit als Haut aus, welche aus vorherrschend rundlichen, aber mit scharfen Ecken versehenen Körnchen besteht. Die wenigen gut ausgebildeten Krystalle, häufig Zwillinge, sind quadratischen Oktaedern ähnlich (Bruhns). Wie Strecker hat auch Balke[2]) neben den amorphen Massen feine Nadeln beobachtet, sie aber als Episarkin erkannt.

---

[1]) C. Wulff, Ztschr. f. physiol. Ch. **17**. 471.

[2]) G. Bruhns, Ztschr. f. physiol. Ch. **14**. 566. 1890. — Strecker, Ann. d. Ch. u. Pharm. **102**. 205. 1857; **108**. 131. 1858. — Balke, Journ. f. prakt. Ch. [2] **47**. 544.

2. Ohne Krystallwasser. Giebt beim Erhitzen ohne zu schmelzen ein schwer flüchtiges Sublimat unter Entwicklung von Blausäure.

3. Scheidet sich nur sehr langsam aus verdünnter Lösung ab. Löst sich nach Strecker in 300 Theilen kaltem und 78 Theilen siedendem Wasser, in 900 Theilen siedendem Alkohol, nach Bruhns dagegen erst in 1880 Theilen kaltem Wasser. Die Lösungen reagiren gegen Lackmus nicht alkalisch (Strecker). Die übrigen Löslichkeitsverhältnisse wie beim Adenin; nur löst sich das H. leichter in Ammoniak als dieses; in Piperazinlösung löst es sich wie das Xanthin nach Salkowski nicht. — Durch Sättigen seiner Lösung mit Chlorammon wird es nach Hopkins[1]) nicht gefällt.

4. H.-Natrium erhielt Salomon durch Verdunsten der concentrirten Lösung krystallinisch. Das Salz löst sich sofort in concentrirter Lauge. Kohlensäure fällt aus der Lösung in Alkalien nach Strecker Hypoxanthin. — Zinksalz und Cadmiumsalz fällen eine Hypoxanthinlösung nicht; auf Zusatz von überschüssigem Ammoniak scheiden sich Flocken von H.-Zinkoxyd und H.-Cadmiumoxyd ab, die sich selbst in der kochenden Flüssigkeit nur wenig lösen. — Bleizucker und Bleiessig fällen H. nicht (Strecker), Bleiessig nur dann nicht, wenn die Lösung Bleizucker enthält (Weidel). Eine Lösung von 1 Mol. H. in 2 Mol. Natriumhydrat giebt nach Krüger mit Bleizucker einen sich anfangs wieder lösenden amorphen Niederschlag; bei Verwendung von 1 Mol. Bleizucker zur Fällung beträgt die Ausbeute 91,5 %. — H. wird durch Kupfersulphat und Bisulphit in der Kälte und in der Wärme gefällt, durch Kupfersalz und Thiosulphat aber nur in der Wärme (Krüger). Die Kupferoxydulverbindung löst sich nach Krüger und Wulff[2]) erst in 250000 Theilen Wasser.

5. Die neutralen Verbindungen mit Säuren reagiren gegen Lackmus sauer (Bruhns). — Eine Lösung von H. in heisser concentrirter Salzsäure scheidet beim Erkalten farblose perlglänzende Tafeln ab, beim Eindampfen einer Lösung in verdünnter Säure Nadeln, auch mehrere Millimeter lange Prismen $C_5H_4N_4O, HCl, H_2O$. Zersetzen sich mit Wasser sofort. — Das Chloroplatinat bildet gelbe, in warmem Wasser leicht, in kaltem wenig lösliche Krystalle. — Goldchlorid bildet kein dem Adeninchloraurat ähnliches Salz. — Das Nitrat besteht aus grossen wasserhellen rechtwinkligen Krystallen, die sich mit Wasser zersetzen. — Aus einer Lösung des Hypoxanthins in concentrirter Schwefelsäure scheiden sich beim Stehen an der Luft oder auf Zusatz von Alkohol farblose Krystallnadeln ab, welche in Wasser zu einem weissen Pulver zerfallen. — Mit Metaphosphorsäure giebt H. keine schwer lösliche Verbindung (Wulff). — Pikrat $C_5H_4N_4O . C_6H_2(NO_2)_3OH, H_2O$ (Wulff). Versetzt man eine warme Lösung von salzsaurem Hypoxanthin mit Pikrinsäure, so setzen sich beim Erkalten und in der Ruhe 3—4 mm lange kaum gelblich gefärbte prismatische Nadeln ab (Capranica[3]). Eine neutrale Hypoxanthinlösung giebt mit Pikrinsäure, eine Lösung von H. in Säure mit Natriumpikrat je nach der Concentration in kürzerer oder längerer Zeit einen Niederschlag von gelben glänzenden Prismen; eine Lösung von 0,141 gr. H. in 80 CC. heissem Wasser beginnt beim Erkalten das Pikrat abzuscheiden. Lufttrocken citronengelbes glänzendes Pulver, verliert bei 100° Krystallwasser

---

[1]) Salkowski, Pflüger's Archiv **56**. 349. 1894. — F. G. Hopkins, Journ. of Pathol. and Bacteriol. 1893. 452.

[2]) G. Salomon, Virchow's Archiv **125**. 559. — Weidel, Ann. d. Ch. u. Pharm. **158**. 362. — M. Krüger, Ztschr. f. physiol. Ch. **18**. 432. 1894; **18**. 355; **20**. 173. — Krüger u. Wulff, Zeitschr. f. physiol. Ch. **20**. 184. 1894.

[3]) G. Bruhns, Ztschr. f. physiol. Ch. **14**. 540. 1890. — Wulff, Ztschr. f. physiol. Ch. **17**. 504, 505 u. 499. — Capranica, Ztschr. f. physiol. Ch. **4**. 233. 1880.

und Glanz. Leicht löslich in heissem Wasser, schwer in kaltem Wasser, leicht löslich in Alkalien, auch in Ammoniak (Wulff). Eine kaltgesättigte Lösung in Säure giebt nicht, wie das Adenin, mit Natriumpikrat einen Niederschlag (Bruhns[1]). — H.-Silberpikrat $C_5H_3AgN_4O, C_6H_2(NO_2)_3OH$. Eine siedende Lösung von H.-Pikrat (eine Lösung von H.-Nitrat in Gegenwart von überschüssigem Natriumpikrat) giebt mit neutraler oder schwach saurer Silbernitratlösung allmählich, bei grösserer Concentration sofort, einen citronengelben körnigen Niederschlag von feinen kurzen Nadeln. In heissem Wasser wenig, in kaltem gar nicht löslich; die Fällung ist eine nahezu vollständige. Durch wässriges Ammoniak wird dem Salz die Pikrinsäure leicht und vollständig entzogen, es geht die Hälfte des H. in Lösung und zurück bleibt H.-Silberoxyd (Bruhns[2]). — Harnsaures Hypoxanthin. Wird eine Lösung von harnsaurem Kali mit der erforderlichen Menge salzsaurem Hypoxanthin versetzt, so entsteht nach Strecker[3]) ein krystallinischer, in kochendem Wasser ziemlich löslicher Niederschlag. — Die Verbindung von **Adenin mit Hypoxanthin ist bei Adenin (VI. 5.) beschrieben.**

6. **H. wird durch Quecksilberoxydsalze gefällt. Mit Quecksilber**chlorid hat Bruhns[4]) folgende Verbindungen erhalten. Chlorquecksilberhypoxanthin $C_5H_3N_4O$ - Hg - Cl = $(C_5H_3N_4O)_2Hg, HgCl_2$ entstand auf Zusatz der äquivalenten Menge Quecksilberchlorid zur siedenden Lösung von H. in viel Wasser als geringer krystallinischer Niederschlag, der sich beim Erkalten vermehrte. Das Filtrat enthielt noch viel H. und schied mit Quecksilberchlorid kuglige Nadelaggregate derselben Verbindung von minder reinem Zustand ab. Eine wässerige H.-Lösung gab mit überschüssigem Quecksilberchlorid die krystallinische Verbindung $C_5H_3N_4O, HgCl, HgCl_2, H_2O$ (oder $\frac{1}{2}$ H_2O). Die Lösung dieser in möglichst wenig heisser verdünnter Salzsäure schied beim Erkalten weissliche kuglige Aggregate von blättrigen und nadelförmigen glänzenden Krystallen $C_5H_3N_4O, HgCl_2, H_2O$ ab. — Das salpetersaure H.-Silber $C_5H_4N_4O, AgNO_3$ krystallisirt in Drusen deutlicher mikroskopischer, manchmal gebogener Prismen (Taf. I. Fig. 6, rechte Hälfte). Es löst sich sehr schwer in kalter Salpetersäure von 1,1 Dichte (in 4960 Theilen, nach Neubauer[5]) in 4470 Theilen), namentlich schwer bei Gegenwart von überschüssigem Silbernitrat (nach Neubauer in 42250, nach Bruhns[6]) in 17100 Theilen), und scheidet sich aus der heissen Lösung beim Erkalten wieder ab. Es ist lichtbeständig und unlöslich in Wasser. Lässt sich aus Salpetersäure umkrystallisiren. Besitzt aber nach Bruhns[7]) die angegebene Zusammensetzung nur dann, wenn es nicht vollständig ausfällt, und auch da nicht immer, sondern ist silberreicher (35.6 % statt 35,29). Durch Umkrystallisiren in Gegenwart von Silbernitrat steigt der Silbergehalt im Mittel bis zu 36,5 % und zwar um so höher, je mehr sich Silbernitrat in Lösung befindet; durch Umkrystallisiren dieser silberreichen Verbindung aus Salpetersäure sinkt der Silbergehalt wieder auf 35,6—35,8 %. Beim Auswaschen verliert es öfter etwas salpetersaures Silber. Durch Digeriren mit Ammoniak geht es unter Verlust der Hälfte H. in H.-Silberoxyd über. — H.-Silberoxyd $C_5H_2Ag_2N_4O, H_2O$ entsteht beim Fällen von H. mit ammoniakalischer Silberlösung (Strecker). Weisse Gallert, so gut wie unlöslich im Wasser, schwer löslich auch in starkem Ammoniak. Verliert bei 120° $\frac{1}{2}$ H_2O (Strecker), muss aber dazu mindestens 2 Stunden getrocknet werden. Bei der Behandlung von H.-Silbernitrat mit überschüssigem wässrigen Ammoniak erhält man nach Bruhns[8]) die Verbindung $C_5H_2Ag_2N_4O, 3H_2O$ in mikroskopischen Nadeln; nicht so leicht entsteht sie auf Zusatz von Silbernitrat zu einer siedenden ammoniakalischen H.-Lösung. Die Verbindung löst sich selbst beim Kochen nur wenig in Ammoniakwasser. Bei 120° giebt sie $2\frac{1}{2}H_2O$ ab

---

1) Bruhns, a. a. O. 540. — 2) Bruhns, a. a. O. 555. — 3) Strecker, Ann. d. Ch. u. Pharm. **108**. 138. 1858. — 4) Bruhns, a. a. O. 570. — 5) Neubauer, Ztsch. f. analyt. Ch. **6**. 35. 1867. — 6) Bruhns, a. a. O. 549. — 7) Bruhns, a. a. O. 547. — 8) Bruhns, a. a. O. 546.

bei 140—150° verliert sie noch mehr an Gewicht und wird grau, nimmt aber an feuchter Luft wieder nahezu soviel Wasser auf, als sie verloren hatte.

7. Mit Natronlauge und Chlorkalk giebt es keine grüne Färbung, wie das Xanthin (Salkowski). — Nach dem Behandeln mit Zink und Salzsäure giebt es auf Zusatz von Natron an der Luft dieselbe Färbung wie das Adenin (VI. 7.) — Beim Schmelzen mit Kaliumhydrat liefert es nicht die Hälfte seines Stickstoffs an Ammoniak und Blausäure (Kossel). — Bromhypoxanthin ist von Krüger[1]) beschrieben worden. — Durch salpetrige Säure wird Adenin in Hypoxanthin übergeführt (Kossel, Krüger[2]).

VI. Adenin[3]).



$C_5H_5N_5$.

1. Aus verdünnten kalten Lösungen mit 3 H_2O in langen Nadeln, aus warmen oder unreinen Lösungen amorph oder nur in mikroskopischen, langen, glatten, sechsseitigen, auch büschelförmig gruppirten Prismen (Kossel[3]). Krystallisirt auch wasserfrei in mikroskopisch kleinen wetzsteinförmigen Krystallen, (gestreckten Pyramiden, auch in stechapfelförmigen Drusen solcher), beim Uebersättigen concentrirter Lösungen des Chlorids mit Ammoniak (oder kohlensaurem Ammon) oder beim Einleiten von Kohlensäure in eine alkalische Lösung. Beim Umkrystallisiren aus siedendem Wasser erhält man etwas grössere einzelne oder zu Stechapfelformen angeordnete vierseitige Pyramiden, auch häufig Zwillinge nach der Basis, seltner Durchwachsungen (Krüger[4]). Die wasserhaltigen Krystalle werden an der Luft bald undurchsichtig, schneller in der Wärme; die Trübung in wenig Wasser suspendirter Krystalle tritt bei 53° plötzlich ein. Beim Uebergiessen mit Säuren werden die Krystalle sofort undurchsichtig (Kossel).

2. Sublimirt bei 220° unzersetzt zu einem rein weissen federähnlichen Aggregat feiner Nadeln, bei 250° unter theilweiser Zersetzung; schmilzt bei 278° noch nicht.

3. Löst sich in 1086 Theilen kaltem Wasser, leicht in heissem. Die Lösung reagirt neutral. Unlöslich in Aether und in Chloroform, etwas löslich in heissem Alkohol; in unreinem Zustand löst es sich schon in kaltem Alkohol. Löst sich in Säuren, auch in Eisessig (Kossel). Sehr leicht löslich in den Alkalihydraten, auch in Ammoniak, in diesem aber schwieriger als das Hypoxanthin. Bei der Digestion mit sehr verdünntem Ammoniak auf dem Wasserbade geht es völlig in Lösung, kann aber darnach wieder theilweise ausfallen. Aus den alkalischen Lösungen wird es beim Neutralisiren mit Essigsäure oder beim Einleiten von Kohlensäure abgeschieden. In kohlensaurem Natron löst es sich nur wenig, fällt aber bei der Uebersättigung seiner Lösung in Säuren mit kohlensaurem Natron nur sehr langsam aus (zuweilen erst nach 48 Stunden).

4. Adenin-Blei, nach dem Trocknen bei 130° $C_5H_3PbN_5$, erhält man nach Krüger[5]) in mikroskopischen, nadelförmigen, glanzlosen Krystallen, wenn man in eine Lösung von 1 Mol. Bleiacetat eine Lösung von 1 Mol. A. in 2 Mol. Natriumhydrat eingiesst. Sehr schwer löslich in Wasser, löslich in überschüssigem Bleiacetat. — Eine wässrige A.-Lösung giebt mit Kupfersulphat einen amorphen graublauen Niederschlag, der sich in Alkalihydrat hellblau löst; die Lösung scheidet

---

1) M. Krüger, Ztschr. f. physiol. Ch. **18**. 445. 448. 1894.
2) Kossel, Ztschr. f. physiol. Ch. **10**. 258. — Krüger, daselbst **18**. 444.
3) Kossel, Ztschr. f. physiol. Ch. **10**. 250. 1886; **12**. 241. 1888; **16**. 1. 1891.
4) M. Krüger, Ztschr. f. physiol. Ch. **16**. 164. 1891.
5) M. Krüger, Ztschr. f. physiol. Ch. **18**. 430. 1894.

beim Erwärmen allmählich Kupferoxyd ab. Der Niederschlag enthält auf 1 Mol. Schwefelsäure 2 At. Kupfer und ist als ein Gemeng von Adeninkupfer mit Adenin-Kupfersulphat anzusehen (Krüger[1]). — Adenin-Kupferoxydul. Die Verbindung entsteht in Gegenwart von Kupfersulphat sowohl durch Bisulphit als Thiosulphat langsam schon in der Kälte, sofort in der Wärme, selbst bei einer Verdünnung von 1 : 65000 in wenig Secunden. Der mit Sulphit entstandene Niederschlag enthält noch 0.5 Mol. Schwefelsäure gebunden (Krüger[2]). Löst sich erst in 200000 Theilen Wasser (Krüger und Wulff[3]).

5. Die Lösungen der Verbindungen mit Säuren reagiren gegen Lackmus sauer (Bruhns[4]). Das Chlorid $C_5H_5N_5, HCl, {}^1/_2 H_2O$ bildet kurze dicke stark glänzende Prismen mit gebrochenen Endflächen, die schiefe Kante bildet mit der langen Seite des Prismas oft einen Winkel von 137° (Kossel); tritt auch in knolligen Aggregaten auf. Löst sich in 41,9 Theilen kaltem Wasser. — Chloroplatinat. Verdünnte Lösungen setzen in der Kälte nach einiger Zeit kleine gelbe Nadeln $(C_5H_5N_5, HCl)_2 PtCl_4$ ab; eine concentrirte Lösung dieses Salzes liefert bei längerem Kochen ein in Wasser sehr wenig lösliches hellgelbes Pulver $C_5H_5N_5, HCl, PtCl_4$ (Kossel). — Das Chloraurat $C_5H_5N_5, HCl, HAuCl_4, H_2O$ wird nach Wulff[5] beim Vermischen einer concentrirten Adeninchloridlösung mit Goldchlorid sogleich, oder aus verdünnterer Lösung beim Eindampfen in wohl ausgebildeten makroskopischen kurzen dicken glasglänzenden orangefarbenen vierseitigen Prismen mit vierflächiger Zuspitzung erhalten. — Nitrat $C_5H_5N_5, HNO_3, {}^1/_2 H_2O$, sternförmig gruppirte Nadeln, in unreinem Zustande grosse Knollen, löst sich in 110,6 Theilen kaltem Wasser. — Das Sulphat $(C_5H_5N_5)_2 H_2SO_4, 2 H_2O$, krystallisirt in zwei verschiedenen Formen, löst sich in 153 Theilen kaltem Wasser, leicht in heissem. Das Chlorid und das Sulphat lassen sich aus Wasser unzersetzt umkrystallisiren. — Pyrochromat $(C_5H_5N_5)_2 H_2Cr_2O_7$. Aus der heiss bereiteten Lösung von A. in überschüssiger wässriger Chromsäurelösung scheiden sich beim Erkalten gelbrothe sechsseitige Tafeln ab. Schwer in kaltem, leicht in heissem Wasser löslich. Verglimmt auf dem Platinblech unter Funkensprühen (Bruhns, Krüger[6]). — Metaphosphat $C_5H_5N_5, HPO_3$. Selbst eine sehr verdünnte kalt gesättigte Adeninlösung giebt nach Wulff[7]) mit Metaphosphorsäure einen aus äusserst feinen Körnchen oder Häutchen bestehenden Niederschlag. Leicht löslich in Alkalihydrat, auch in Ammoniak und in Natriumphosphat, sowie in verdünnten Säuren, auch in Metaphosphorsäure. — Chloracetat $C_5H_5N_5(CH_2Cl\text{-}COOH)_2$ krystallisirt nach Krüger[8]) aus der heissen wässrigen Lösung von Adenin und Chloressigsäure in rechtwinkligen Plättchen und vierseitigen zu Sternen vereinigten Prismen. Entsteht auch beim Zusammenschmelzen von A. mit Chloressigsäure auf dem Wasserbade. In Wasser und heissem verdünnten Alkohol leicht, in kaltem Alkohol schwer löslich. Schmilzt bei 162–163° unter Entwicklung von Salzsäure zu einer gelbrothen Flüssigkeit. — Oxalat, $C_5H_5N_5, C_2H_2O_4, 2 H_2O$. Eine Lösung von Adenin in heisser verdünnter Oxalsäure scheidet beim Erkalten lange feine Nadeln in voluminösen Massen ab; aus sehr verdünnten Lösungen erfolgt die Abscheidung oft erst nach 8—14 Tagen. Das Salz hat nicht immer die angegebene Zusammensetzung. Die Oxalate des Guanins, Xanthins und Hypoxanthins sind leichter löslich und haben ein anderes Aussehen (Kossel). — Pikrat $C_5H_5N_5, C_6H_2(NO_2)_3OH, H_2O$. Salzsaures Adenin wird nach Bruhns[9]) durch Natriumpikrat, freies A. durch Pikrinsäure als Pikrat gefällt. Der flockige hellgelbe Niederschlag löst sich ziemlich gut in kochendem Wasser, beim Erkalten krystallisiren sehr voluminöse Büschel mikroskopisch feiner gelber Nadeln. Die hellgelbe Farbe unterscheidet dieses Salz fast von allen Pikraten der Xanthin-

1) Krüger, a. a. O. **16**. 165. — 2) Krüger, a. a. O. **18**. 353 u. 355; **20**. 170. — 3) Krüger u. Wulff, Ztschr. f. physiol. Ch. **20**. 184. — 4) G. Bruhns, Ztschr. f. physiol. Ch. **14**. 540. — 5) C. Wulff, Ztschr. f. physiol. Ch. **17**. 507. — 6) Bruhns, a. a. O. **16**. 12; Krüger, a. a. O. **16**. 165. — 7) Wulff, a. a. O. 506 u. 500. — 8) Krüger, a. a. O. **16**. 166. — 9) Bruhns, a. a. O. **14**. 536.

basen, namentlich vom Guaninpikrat. Das Salz zersetzt sich nicht mit Wasser und lässt sich auswaschen (Wulff). Nach dem Trocknen wollige seidenglänzende Masse. Verliert bei 100° schnell Glanz und Krystallwasser, verträgt aber Erhitzen bis 220°. Verbrennt träge, ohne Verpuffung, unter Hinterlassung von viel Kohle. Löst sich bei 15—20° in 3500 Theilen kaltem Wasser, in heissem Wasser aber und in Alkohol von 96% bedeutend leichter. Löst sich auch in der äquivalenten Menge Natriumhydrat, etwas weniger leicht in Natriumcarbonat, leicht auch in Natriumphosphat; wegen der Löslichkeit in Lauge giebt A. auch bei grösserer Concentration mit Natriumpikrat keinen Niederschlag. Verdünnte Säuren lösen das Salz kaum. Eine kalt gesättigte Adeninlösung giebt mit kalt gesättigter Pikrinsäure sofort einen Niederschlag und selbst bei 5 – 8 facher Verdünnung treten die Nadeln noch binnen einer Minute auf. Eine kalt gesättigte Lösung des Salzes scheidet auf Zusatz von 0,1 Vol. concentrirter Natriumpikratlösung in wenig Minuten noch $^5/_7$ des Salzes ab und die Löslichkeit ist dann auf 1 : 13750 gesunken. Aus dem Pikrat kann man die Basis gewinnen durch Zerlegen des Salzes mit starker Salzsäure und Ausschütteln der Pikrinsäure mit Aether. — Silberpikrat $C_5H_4AgN_5$, $C_6H_2(NO_2)_3OH$, H_2O. Eine kalte wässrige Lösung von Adeninpikrat giebt nach Bruhns[1]) mit Silbernitrat sofort einen amorphen voluminösen gelben Niederschlag; bei Ueberschuss von Silbersalz bleibt kein A. in Lösung. Fällt man eine siedende Lösung in derselben Weise, so wird der Niederschlag bald krystallinisch. Der amorphe Niederschlag enthält kein Krystallwasser. Ammoniak entzieht der Verbindung Pikrinsäure, unter Hinterlassung von Adeninsilber. — Quecksilberpikrat $(C_5H_4N_5)_2Hg$, 2 $C_6H_2(NO_2)_3OH$ mit H_2O u. 2 H_2O, fällt als körnig krystallinischer, aus Nadeln bestehender Niederschlag, wenn man eine heisse concentrirte wässrige Lösung von Adeninpikrat mit Natriumpikrat und Quecksilberchlorid versetzt; das Natriumpikrat bindet die frei werdende Salzsäure, in welcher sich der Niederschlag ziemlich leicht löst. Die Fällung ist keine quantitative. In der Kälte scheint unter gleichen Umständen derselbe Niederschlag zu entstehen (Bruhns[2]). — Eine halbprocentige A.-Lösung giebt nach Krüger[3]) mit Ferro- oder Ferricyankalium auch nach längerem Stehen keinen Niederschlag; Essigsäure scheidet aber aus der mit dem Ferrosalz versetzten Lösung dünne Plättchen, aus der Ferrisalz enthaltenden hellbraune zu Drusen vereinigte zweiflächig zugespitzte Krystalle ab. — Adenin-Hypoxanthin $C_5H_5N_5 . C_5H_4N_4O$ scheidet sich nach Bruhns[4]) aus der heissen Lösung gleicher Gewichtstheile beider Basen beim Erkalten als kleisterähnliche durchscheinende Masse aus, die bei längerem Verweilen in der Flüssigkeit zum Theil kreideweiss wird. Löst sich in warmem Wasser ziemlich gut, und schneller als gleichzeitig ausgeschiedenes A. Aus der Lösung in starkem Ammoniak krystallisirt die Verbindung mit 3 H_2O in perlenartigen Aggregaten sehr kleiner radial gestellter Nadeln. Bildet ein einheitliches Chlorhydrat, das aber mit Goldchorid sofort Adeninchlorgold liefert. Aus der Lösung des Sulphats und Nitrats krystallisirt zuerst das (schwerer lösliche) Adeninsalz. Die Basen lassen sich auch durch Pikrinsäure trennen. — Adenin-Theobromin, $C_5H_5N_5 . C_7H_8N_4O_2$, $4^1/_2$ H_2O. Aus einer heissen wässrigen Lösung von Theobromin mit mehr als 1 Mol. Adenin krystallisirt nach Krüger[5]) die Verbindung in langen sehr feinen seidenglänzenden Prismen. Leicht löslich in heissem Wasser, schwerer in kaltem. Zersetzt sich theilweise beim Umkrystallisiren aus Wasser unter Ausscheidung von Theobromin. Pikrinsäure fällt aus der Lösung Adeninpikrat.

6. Cadmiumchlorid giebt einen Niederschlag, der sich in der Wärme löst und beim Erkalten wieder erscheint; leicht löslich in Ammoniak. — Alkoholische Chlorzinklösung erzeugt einen in Ammoniak löslichen Niederschlag. Behandelt man Adenin mit Zink und Salzsäure in der Kälte und lässt die Lösung

---

1) Bruhns, a. a. O. 556. — 2) Bruhns, a. a. O. 571. — 3) Krüger, Ztschr. f. physiol. Ch. **16**. 165. — 4) Bruhns, a. a. O. 561. — 5) Krüger, Ztschr. f. physiol. Ch. **21**. 277.

über Kali stehen, so scheiden sich Krystalle aus, die sich in Wasser lösen; nach kurzer Zeit setzt diese Lösung schwer lösliche Krystalle von Adenin-Chlorzink ab. Die Krystalle hinterlassen beim Abdampfen mit Salpetersäure einen gelben Rückstand, der beim Erhitzen mit Natronlauge intensiv gelb wird. Reines Adenin giebt auch bei Gegenwart von Chlorzink diese Reaction nicht. Das Doppelsalz bildet sich nicht aus salzsaurem Adenin und Chlorzink. — Quecksilberchlorid und Quecksilbernitrat geben in heissem Wasser unlösliche, in Salzsäure leicht lösliche Niederschläge (Kossel). Eine Verbindung $C_5H_4N_5$-Hg-Cl entsteht als weisser feinkörniger Niederschlag, wenn man eine siedende wässrige Adeninlösung allmählich mit concentrirter Sublimatlösung versetzt (Bruhns[1]); die bei der Bildung des Salzes frei werdende Salzsäure hält solches Salz in Lösung, das durch Neutralisiren mit Soda abgeschieden werden kann (Krüger[2]). Ammoniakwasser entzieht der Verbindung Chlor und verwandelt sie vielleicht in $C_5H_4N_5$-Hg-OH. Bei der Fällung der siedenden Lösung mit viel überschüssigem Quecksilberchlorid und der zur Lösung nöthigen Menge Salzsäure, oder bei der Fällung in der Kälte entsteht eine Verbindung $C_5H_4N_5$-HgCl, $HgCl_2$. Fällt man in Gegenwart von viel Salzsäure, so entstehen Doppelsalze von salzsaurem Adenin mit 1—6 Mol. $HgCl_2$, die beim Kochen mit Wasser zu $C_5H_4N_5$ -Hg-Cl, $HgCl_2$ werden (Bruhns). — Adenin-Quecksilbercyanid $(C_5H_5N_5)_2Hg(CN)_2$ krystallisirt nach Bruhns[3]) aus einer heissen Lösung von Adenin und Quecksilbercyanid in sternförmig gruppirten Nadeln und Plättchen. — Jodwismuth-Adenin $C_5H_5N_5$, HJ, $2BiJ_3$, H_2O; entsteht nach Bruhns[4]) bei Zusatz von Jodwasserstoff enthaltender Jodwismuthkaliumlösung zu einer wässrigen Adeninlösung als Niederschlag glänzender hellrother Nadeln. Zersetzt sich mit viel Wasser zu rothgelben amorphen Flocken, wird beim Trocknen an der Luft tiefroth, bei 100° braunroth. — Salpetersaures Adenin-Silber, $C_5H_5N_5$, $AgNO_3$, krystallisirt aus der Lösung in heisser Salpetersäure von 1,1 Dichte beim Erkalten in mehrere Millimeter langen Krystallen, die sich beim Auswaschen mit Wasser anscheinend unter Verlust von Salpetersäure, beim Auswaschen mit verdünnter Salpetersäure unter Verlust von Silber zersetzen (Kossel[5]). Nach Bruhns[6]) erhält man beim Fällen von A. mit Silbernitrat immer Gemenge von Verbindungen mit 1 und mit 2 $AgNO_3$; der Niederschlag enthält um so mehr Silber (bis 39,8 %), je mehr Silbernitrat bei der Fällung oder Krystallisation zugegen war, aber auch bei Ueberschuss an A. in der Lösung, enthält die Verbindung nicht weniger als 36,7 % (statt 35,4). Das Waschwasser reagirt auf Lackmus sehr lang sauer und enthält auch Silber. In einem mit Salpetersäure gewaschenen Salz fand Kossel nur 27,99 % Ag. In Salpetersäure von 1,1 Dichte löst es sich, bei Gegenwart von überschüssigem Silbernitrat, ungefähr ebenso wenig, wie die Hypoxanthinverbindung. Bei der Behandlung dieser Salze mit Ammoniak erhält man Gemenge von $C_5H_4AgN_5$ und $C_5H_3Ag_2N_5$; werden sie mit nur mässigen Mengen Ammoniak behandelt, so geht Adenin nicht merklich in Lösung. — Adenin-Silber $C_5H_4AgN_5$ und $C_5H_3Ag_2N_5$, H_2O erhält man, ausser durch die Digestion des A.-Silbernitrats mit Ammoniak nach Kossel[7]), auch bei der Fällung einer ammoniakalischen Adeninlösung mit Silbernitrat in der Siedehitze; der Gehalt an Silber ist von der Menge des verwendeten Silbersalzes abhängig. Auch wenn man die Lösung mit Silbernitrat vollständig ausfällt, entsteht nach Bruhns[8]) das Gemeng. Durch ammoniakalische Silberlösung wird aber das A. so gut wie vollständig abgeschieden; der Niederschlag löst sich auch bei Siedehitze nur schwer in Ammoniak.

7. Adenin kann nach Kossel[9]) stundenlang mit Barytwasser, Kalilauge oder Salzsäure gekocht werden, ohne angegriffen zu werden. Bei Temperaturen über

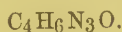
---

1) Bruhns, a. a. O. 567. — 2) Krüger, a. a. O. **18**. 431. — 3) Bruhns, a. a. O. 573. — 4) Bruhns, a. a. O. 574. — 5) Kossel, Ztschr. f. physiol. Ch. **10**. 257. — 6) Bruhns, a. a. O. 552. — 7) Kossel, a. a. O. **12**. 248. — 8) Bruhns, a. a. O. 547. — 9) Kossel, Ztsch. f. physiol. Ch. **12**. 248.

100° erfolgt völlige Zersetzung. Beim Erhitzen mit rauchender Salzsäure auf 180—200° zerfällt es nach Krüger[1]) in Glykokoll, Ammoniak, Kohlensäure und Ameisensäure nach $C_5H_5N_5 + 8\,H_2O = C_2H_5NO_2 + 4\,NH_3 + CO_2 + 2\,H.CO\,OH$. Wird es mit festem Kaliumhydrat auf 200° erhitzt, so liefert es reichlich Blausäure. Beim Kochen mit Permanganat erweist es sich nach Krüger[2]) sehr beständig, wird aber nach Kossel bei starker Oxydationswirkung zerstört. Selbst bei langdauerndem Kochen mit Chromsäure erleidet es keine Veränderung (Krüger[3]). Brom führt (trocknes) Adenin nach Krüger[4]) in bromwasserstoffsaures Bromadenin $C_5H_4BrN_5$, HBr über. — Salpetrige Säure verwandelt es in Hypoxanthin (Kossel, Krüger[5]); selbst grössere Mengen Harnstoff neben wenig salpetriger Säure hindern diese Zersetzung nicht völlig (Krüger[6]). Durch Natriumamalgam sowie durch Kochen mit Zinnchlorür wird das Adenin nach Kossel nur sehr langsam oder gar nicht angegriffen. Durch Zink und verdünnte Salzsäure wird das Adenin in einen Körper übergeführt, der in neutraler oder alkalischer Lösung unter Aufnahme von Sauerstoff roth und braunroth wird. Dieses der Azulminsäure ähnliche Produkt, giebt mit concentrirten Säuren leicht grün und braun schillernde Lösungen; auch in Ammoniak und den fixen Alkalien löst es sich leicht. Eine halbprocentige wässrige Adeninlösung wird durch Eisenchlorid stark roth, beim nachfolgenden Kochen aber nicht verändert (Krüger).

8. Dampft man A. mit verdünnter oder rauchender Salpetersäure auf dem Wasserbad ein, so bleibt ein weisser oder gelblicher Rückstand, der sich weder mit Ammoniak, noch mit Kalilauge oder Baryumhydrat färbt (Kossel, Bruhns[7]), auch die Weidel'sche Probe giebt es nicht (Kossel).

VII. Episarkin.



$C_4H_6N_3O$.

1. Scheidet sich aus schwach ammoniakalischer Lösung allmählich oder sofort krystallinisch ab (Balke, Salomon[8]), ebenso beim Einleiten von Kohlensäure in eine ammoniakalische Lösung (B., S.). Makroskopische, glänzende Nadeln und Prismen, zuweilen (B.) zu Büscheln vereinigt. Auf dem Filter verfilzt, asbestartig, seidenglänzend.

2. Luftbeständig, verwittert nicht (B.), trübt sich beim Erhitzen nicht (S.). Verbrennt, ohne vorher zu schmelzen (S.).

3. Löst sich in 13000 Theilen kaltem Wasser (B.), leichter in heissem (S.), aber immerhin noch schwer (B.). Schwer löslich in Ammoniak, wird aus seinen sauren Lösungen bei schwachem Uebersättigen mit Ammoniak gefällt (S.). Leicht löslich in Salzsäure (B., S.) und in Schwefelsäure, schwer in Salpetersäure.

4. Giebt mit Natronlauge keine schwer lösliche Natriumverbindung. — Wird durch Bleiessig und Ammoniak gefällt (B., S.). Der Niederschlag, welcher beim Einleiten von Kohlensäure in die ammoniakalische Lösung entsteht, ist vielleicht ein Ammonsalz (B.).

5. Das Chlorid ist krystallinisch und leicht löslich (B.). Ein unzweifelhaftes Chloroplatinat hat Salomon nur einmal (in sandartigen polyedrischen

---

1) Krüger, Ztschr. f. physiol. Ch. **16**. 167. — 2) Krüger, a. a. O. **18**. 425. — 3) Krüger, a. a. O. **16**. 166. — 4) Krüger, a. a. O. **16**. 330. — 5) Kossel, a. a. O. **10**. 258. — Krüger, Ztschr. f. physiol. Ch. **18**. 444. — 6) Krüger, a. a. O. **21**. 274. — 7) Kossel, a. a. O. **10**. 255. — Bruhns, a. a. O. **14**. 539. — 8) P. Balke, Journ. f. prakt. Ch. [2] **47**. 544 u. 563. 1893. — G. Salomon, Ztschr. f. physiol. Ch. **18**. 207. 1893.

Krystallen) erhalten, mit zwei anderen Präparaten nur Krystalle, welche wie gelbgefärbtes Chlorid aussahen. Goldchlorid erzeugt in der salzsauren Lösung einen gut krystallisirten Niederschlag (S.). Mit Pikrinsäure erhielt Balke keinen Niederschlag, Salomon dagegen ein intensiv gelbes Salz oder (aus der concentrirten Lösung des Chlorids mit kalt gesättigter Pikrinsäurelösung) grosse Krystallbüschel.

6. Quecksilberoxydsalze fällen, ebenso ammoniakalische Silberlösung (S.). — Der Niederschlag, welchen das E. mit viel salpetersaurem Silber giebt, ist in Salpetersäure unlöslich, in Ammoniak ziemlich leicht löslich (B.).

7. Giebt weder die Xanthinprobe, noch die Weidel'sche Reaction, hinterlässt aber beim Verdampfen mit Salzsäure und etwas Kaliumchlorat einen weissen Rückstand, der in Ammoniakdampf intensiv violett wird (B., S.) — Giebt bei der Behandlung mit Zink und Salzsäure nicht die rothe Färbung wie das Hypoxanthin und Adenin (VI. 7.) (B.).

VIII. Carnin[1]).


$C_7H_8N_4O_3$.

1. Lufttrocken $C_7H_8N_4O_3$, H_2O. Bildet gewissen Formen des kohlensauren Kalks ähnliche Drusen und Knollen mikroskopischer, unregelmässig begrenzter derber Krystalle; grosse Krystalle lassen sich nicht erhalten. Nach dem Trocknen kreideweiss.

2. Löst sich sehr schwer in kaltem Wasser, leicht in heissem und fällt beim Erkalten leicht wieder aus. Es löst sich schwer in Ammoniak, leicht in Alkalihydrat (Krukenberg und Wagner), leicht in Mineralsäuren (Huppert); seine Lösung reagirt völlig neutral. Alkohol sowie Aether lösen es nicht.

3. Beginnt sich bei 230° zu bräunen und liefert einige Grad darüber ein unbedeutendes Sublimat. Auf dem Platinblech verbrennt es mit bläulicher Flamme unter Verbreitung eines eigenthümlichen Geruchs.

4. Wird durch Bleiessig gefällt, jedoch nicht in Gegenwart von Bleizucker (Weidel); der Niederschlag löst sich in der Wärme und tritt beim Erkalten wieder auf.

5. Salzsaures Carnin $C_7H_8N_4O_3$, HCl. Eine Lösung von Carnin in warmer starker Salzsäure setzt beim Erkalten bald hübsche glasglänzende Nadeln in charakteristischen Rosetten ab. Die wässrige Lösung der Krystalle liefert beim Erkalten zumeist einen Schlamm, der sich erst bei längerem Stehen wieder in Nadeln verwandelt. — Das Chloroplatinat $C_7H_8N_4O_3$, HCl, $PtCl_4$ scheidet sich auf Zusatz von Platinchlorid zur Lösung des Chlorids allmählich als feines sandiges goldgelbes Pulver ab. — Jodwasserstoffsaures Carnin krystallisirt aus einer warmen Lösung von Carnin in concentrirter Jodwasserstoffsäure in Nadeln. — Pikrinsäure giebt keinen Niederschlag.

6. Mit Quecksilberchlorid und mit salpetersaurem Quecksilberoxyd giebt es einen weissen Niederschlag. — Salpetersaures Carnin-Silber $(C_7H_7AgN_4O_3)_2$ $AgNO_3$ fällt auf Zusatz von salpetersaurem Silber zu einer Carninlösung als flockiger weisser ziemlich lichtbeständiger Niederschlag, der sich weder in Salpetersäure noch in Ammoniak merklich auflöst.

7. Verwandelt sich beim Erwärmen mit gesättigtem Brom- oder Chlorwasser unter schwacher Gasentwicklung, ferner beim Erwärmen mit Salpetersäure unter ziemlich heftiger Reaction in Sarkin. Die Zersetzung mit Brom verläuft vielleicht nach

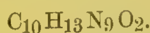

$$C_7H_8N_4O_3 + Br_2 = C_5H_4N_4O,\ HBr + CH_3Br + CO_2.$$

---

1) H. Weidel, Ann. d. Ch. u. Pharm. **158**. 353. 1871. — Krukenberg und H. Wagner, Verhandlungen der Würzburger physik. med. Gesellsch. 1883.

Der Angabe von Weidel, dass mit Chlorwasser eingedampftes Carnin sich in einer Ammoniakatmosphäre roth färbt, wird von Krukenberg und Wagner widersprochen. Nach meiner Erfahrung tritt die Färbung jedoch dann ein, wenn nur wenig Chlorwasser zur Reaction verwendet wird. — Beim Kochen mit starker Salzsäure färbt sich die Lösung immer stärker braun und schliesslich wird das Carnin unter Ausscheidung brauner Flocken völlig zersetzt. — Wird Carnin mit concentrirter Jodwasserstoffsäure erhitzt, so bräunt sich die Lösung unter Ausscheidung von Jod und beim Erkalten krystallisirt jodwasserstoffsaures Carnin aus. — Mit Barytwasser lässt sich das Carnin stundenlang ohne Zersetzung kochen.

IX. Epiguanin[1]).



$C_{10}H_{13}N_9O_2$.

1. Beim Uebersättigen der salzsauren Lösung mit Ammoniak scheiden sich sofort feine lange Nadeln ab; krystallisirt langsam aus Wasser in feinen Nadeln, schneller aus ammoniakhaltigem Wasser in seidenglänzenden Prismen.

2. Sehr schwer löslich in Wasser und in Ammoniak, leichter in Soda, sehr leicht in verdünnter Natronlauge, auch leicht löslich in heisser 33procentiger Natronlauge. Leicht löslich in Salzsäure und in Schwefelsäure, schwerer in Salpetersäure.

3. Aus der Lösung in heisser 33procentiger Natronlauge krystallisiren beim Erkalten stark glänzende breite zugespitzte Nadeln. — Die wässrige Lösung wird weder durch die Bleiacetate, noch durch Bleiessig und Ammoniak gefällt.

4. Das charakteristische Chloroplatinat krystallisirt beim Verdunsten seiner wässrigen Lösung in 2—3 mm langen sechsseitigen orangerothen prachtvoll glänzenden Prismen. — Die salzsaure Lösung giebt mit Goldchlorid sofort einen Niederschlag von gelben feinen Nadeln. — Das Nitrat tritt in kleinen polyedrischen Krystallen auf. — Das Pyrochromat bildet feine glänzende Prismen. — Das Pikrat scheidet sich beim Erkalten seiner heissen Lösung in gebogenen haarfeinen Nadeln ab.

5. Quecksilberchlorid giebt mit der wässrigen Lösung der Basis erst auf Zusatz von Natriumcarbonat einen weissen flockigen Niederschlag. Der mit ammoniakalischer Silberlösung in der wässrigen Lösung erzeugte Niederschlag ist gallertig, der mit Kupfersulphat und saurem schwefligsauren Salz entstehende flockig und braunroth.

6. Das Epiguanin hinterlässt beim Eindampfen mit concentrirter Salpetersäure einen gelben Fleck, der mit Natronlauge orangeroth, beim nachfolgenden Erwärmen violett wird. Die übrigen Farbenreactionen der Xanthinbasen fallen negativ aus.

X. Unbenannte Basis von Krüger[1]).

Aus der Mutterlauge des Epiguanins mit Pikrinsäure.

1. Beim Erkalten der Lösung häutige amorphe Massen.

2. Leicht löslich in Wasser und in 33proc. Natronlauge, leicht löslich auch in Salzsäure, Salpetersäure, Schwefelsäure.

3. Wird nicht gefällt durch Bleiessig allein, wohl aber durch Bleiessig und Ammoniak.

4. Das Chlorid krystallisirt aus concentrirter Lösung in langen seidenglänzenden vierseitigen Prismen. — Das Chloroplatinat gelbes Krystallpulver

---

[1]) M. Krüger, Du Bois Archiv 1894. 533.

von übereinander gelagerten unregelmässigen Plättchen. — Das Chloraurat bildet, ähnlich dem des Adenins, gelbe makroskopische vierseitige Prismen. — Das charakteristische Nitrat scheidet sich auf Zusatz überschüssiger Salpetersäure sofort in kleinen vierseitigen Plättchen aus, welche häufig durch Vorwölbung zweier einander gegenüberliegender Seiten ein tonnenförmiges Aussehen annehmen. — Das Pikrat scheidet sich langsam in kleinen kugligen, aus spitzen Krystallen bestehenden Aggregaten ab.

5. Wird durch Quecksilberchlorid und durch Merkurinitrat gefällt. — Aus der Lösung des mit ammoniakalischer Silberlösung erhaltenen Niederschlags in heisser Salpetersäure krystallisiren beim Erkalten glänzende mikroskopische Nadeln. — Wird gefällt durch Kupfersulphat und saures Natriumsulphit.

6. Giebt von den Farbenreactionen nur die Xanthinprobe.

C. *Darstellung* und *Nachweis.*

Die Darstellung zerfällt in zwei Theile, in die Abscheidung der Basen und die Trennung derselben. Für die Abscheidung kommen wesentlich nur zwei Verfahrungsweisen in Betracht, 1. die Fällung mit ammoniakalischer Silberlösung und 2. die Fällung mit Kupferoxydul. Zwei andere Methoden, 3. die Fällung mit Phosphorwolframsäure, und 4. die Fällung mit essigsaurem Kupfer sind nicht so ausgearbeitet, als die beiden anderen, und stehen ihnen deshalb nach. Zur vorläufigen Trennung der Basen geht man von der Silberverbindung aus und führt deshalb die nach 2 und 3 erhaltenen Basen in diese über. Beabsichtigt man einigermaassen grössere Mengen der Basen darzustellen, so lohnt sich die Arbeit nur mit grossen Quantitäten Harn (einigen 100 Ltr.).

I. Fällung.

1. Mit ammoniakalischer Silberlösung.

Das in den Grundzügen von Salkowski[1]) angegebene, von Salomon[2]) erweiterte Verfahren hat zur Entdeckung des Hetero- und des Paraxanthins geführt. In seiner ursprünglichen Form eignet es sich dagegen nicht zum Auffinden des Guanins.

Der Harn wird mit Ammoniak im Ueberschuss versetzt (wobei neben den Erdalkaliphosphaten Guanin mit ausfallen wird), die Flüssigkeit nach 24 Stunden vom Niederschlag abgehoben und mit einer etwa 3 proc. Silberlösung vollständig ausgefällt, wozu 0,5—0,6 g Silbernitrat auf das Liter Harn genügen. Dieser Niederschlag ist dann schnell zu waschen, weil er sich beim Stehen (durch fremde Substanzen) schwärzt; das Waschen geschieht am Zweckmässigsten durch Decantiren. Setzt sich der Niederschlag nicht gut ab, so fehlt es an Ammoniak; man hat aber andererseits einen zu grossen Ueberschuss an Ammoniak zu vermeiden, weil der Niederschlag in Ammoniak nicht ganz unlöslich ist. Man hebt die Flüssigkeit ab und ersetzt sie so oft (6—8mal) durch Wasser, bis die Harnfarbe bis auf die letzten Spuren verschwunden und Chlor nur noch in geringer Menge nachweisbar ist.

Dieser Silberniederschlag kann nun in verschiedener Weise zerlegt werden.

---

1) Salkowski, Virchow's Archiv **50**. 193.
2) Salomon, Ber. d. chem. Gesellsch. **16**. 195. 1883; Ztschr. f. klin. Med. 7. Suppl. Heft 65. 1884.

a. Nach Salomon wird der Niederschlag mit Schwefelwasserstoff behandelt, die Flüssigkeit abgehoben, das Schwefelsilber noch einmal durch Decantiren und dann auf dem Filter gewaschen. Die gesammte so gewonnene Flüssigkeit wird auf ein kleines Volumen (beiläufig 0,004 des Harnvolumens) eingedampft, wobei sich die Harnsäure als dicke graue Schlammschicht am Boden der Schale absetzt. Das Filtrat wird sehr reichlich mit Ammoniak versetzt, nach 24—48 Stunden von dem weissgelblichen, nach Balke[1]) wesentlich aus saurem Urat und Kaliumoxalat bestehenden Niederschlag abfiltrirt, zur weiteren Entfernung des Farbstoffs nochmals mit Silbernitrat gefällt und durch Decantiren gewaschen. Zuletzt bringt man den Silberniederschlag auf ein Filter. — Um die im Schwefelsilber etwa zurückgebliebenen schwer löslichen Basen zu gewinnen, wäre dieses noch mit verdünnter Natronlauge oder Salzsäure auszuziehen.

b. Da nach dem Zerlegen des Silberniederschlags mit Schwefelwasserstoff das Schwefelsilber mit weissen Bröckeln von sauren Uraten durchsetzt war, zog es Balke[1]) vor, den Silberniederschlag mit Natriumhydrosulphid zu behandeln und aus dem Filtrat die Harnsäure mit Salzsäure zu fällen. Dieses Verfahren bietet auch den Vortheil, dass dabei die schwer löslichen Basen dem Schwefelsilber vollkommener entzogen werden.

c. Den Silberniederschlag kann man auch nach Krüger[2]) durch Behandeln mit warmer verdünnter Salzsäure in mässigem Ueberschuss zersetzen, wobei die meiste Harnsäure zurückbleibt und auch die schwer löslichen Basen in Lösung gehen.

Ist die Trennung der Xanthinbasen als Silbernitratverbindungen beabsichtigt, so sind die nach b u. c gewonnenen Flüssigkeiten wieder mit ammoniakalischer Silberlösung zu fällen, die salzsaure Lösung (c) nach dem Verdampfen zur Trockne.

2. Fällung als Kupferoxydulverbindungen.

Der eiweissfreie Harn wird zum Kochen erhitzt und durch unmittelbar auf einander folgenden Zusatz von Natriumbisulphit und Kupfersulphat ausgefällt; der weissflockige, sich an der Luft bräunende Niederschlag wird nach dem Erkalten mit ausgekochtem warmen Wasser vollständig ausgewaschen, dann in mässig warmem Wasser suspendirt und mit (farblosem) Schwefelnatrium (nicht Schwefelammon) unter möglichster Vermeidung eines Ueberschusses zerlegt. Aus der Flüssigkeit fällt man durch nicht viel mehr als die erforderliche Menge Salzsäure die Hauptmasse der Harnsäure, beim Eindampfen der Flüssigkeit scheidet sich dann noch etwas Harnsäure ab. Die Mutterlauge wird abfiltrirt, das Filter etwas nachgewaschen und die Flüssigkeit mit ammoniakalischer Silberlösung gefällt.

Nach der Vorschrift von Krüger und Wulff[3]) verwendet man auf 100 cc Harn 10 cc einer 50 proc. Natriumbisulphitlösung (oder die entsprechende Menge schwächerer Lösung und 10 cc einer 12 proc. (oder gesättigten) Kupfersulphatlösung. Zur Zerlegung des Kupferoxydul-Niederschlags verfährt man so, wie bei der Gewinnung der Harnsäure aus demselben (§ 33. C. 3. e.) — Wenn die Mutterlauge, welche mit ammoniakalischer Silberlösung gefällt werden soll, noch stark gefärbt ist, wiederholt man nach Krüger[4]) die Fälluug mit Kupferoxydul; ein stark gefärbter Silberniederschlag würde beim Kochen mit Salpetersäure zur Bildung von

---

1) Balke, Journ. f. prkt. Ch. [2] **47**. 544.
2) M. Krüger, Ztschr. f. physiol. Ch. **16**. 162; **21**. 275.
3) M. Krüger u. C. Wulff, Ztschr. f. physiol. Ch. **20**. 181 u. 171.
4) Krüger, Ztschr. f. physiol. Ch. **21**. 276.

viel salpetriger Säure führen, was vermieden werden soll, da diese auf das Guanin und Adenin zersetzend einwirkt (Krüger).

3. Fällung mit Phosphorwolframsäure.

Der Harn wird nach Hofmeister[1]) abwechselnd mit so viel Salzsäure und Phosphorwolframsäure versetzt, bis kein Niederschlag mehr entsteht, der Niederschlag nach 24stündigem Stehen mit verdünnter Schwefelsäure (5 Vol. concentrirte auf 100 Vol.) erst durch Decantiren, dann auf dem Filter chlorfrei gewaschen, in der Wärme mit überschüssigem Barymhydrat zerlegt, und das Filtrat durch Kohlensäure oder in der Wärme durch überschüssige Schwefelsäure vom Baryt befreit. Die abfiltrirte Flüssigkeit, welche keine oder nur noch wenig Harnsäure enthält, wird mit ammoniakalischer Silberlösung gefällt und der Niederschlag gewaschen.

Der Harn muss eiweissfrei sein, darf aber Albumose enthalten. — Ob nach diesem Verfahren auch diejenigen Basen gewonnen werden, welche mit Baryt schwer lösliche Verbindungen liefern, ist nicht untersucht. — Die Kynurensäure, welche bei der Verarbeitung von Hundeharn mit in den Phosphorwolframsäure-Niederschlag eingeht, fällt beim Ansäuern des barythaltigen Filtrats mit Schwefelsäure zugleich mit dem Baryumsulphat aus. — Die Phosphorwolframsäure schlägt auch das Kreatinin nieder; wenn man dasselbe zugleich gewinnen will, so scheidet man es nach dem Entfernen des Baryts durch Chlorzink (und essigsaures Natron) ab.

4. Fällung mit essigsaurem Kupfer und Trennung der Basen.

Pouchet[2]) hat sich dazu des folgenden Verfahrens bedient:

Es werden 25—30 l frischer Harn unter Erhaltung der Acidität bei 70—80^0 auf eine Dichte von 1,050 eingedampft. Etwa vorhandene Eiweisskörper werden dabei coagulirt. Die Flüssigkeit wird dann mit gesättigtem Barytwasser, welches im Liter ausserdem 10 g essigsauren Baryt enthält, ausgefällt. Die Reaction ist dann schwach alkalisch. Im Niederschlag sind die Schwefelsäure, die Phosphorsäure und die Harnsäure enthalten; auch kann etwas Hypoxanthin mitgefällt sein, wenn die Flüssigkeit sehr concentrirt war und das Barytwasser in grossem Ueberschuss zugesetzt wurde.

Um diesen Antheil Hypoxanthin zu finden, wird der Barytniederschlag in gelinder Wärme mit schwacher Natronlauge behandelt, das Filtrat mit Essigsäure schwach angesäuert oder besser mit Kohlensäure gesättigt. Dabei fallen Sarkin und Harnsäure aus. Dieser Niederschlag wird nach dem Trocknen 24 Stunden mit Ammoniak in der Kälte digerirt; das Filtrat hinterlässt dann beim Eindampfen das Hypoxanthin in feinen Nadeln.

Das Filtrat vom Barytniederschlag wird mit Essigsäure schwach angesäuert, fast bis zum Syrup eingedunstet und 5—6 Tage an einem kühlen Orte stehen gelassen, wobei der grösste Theil des Kreatins und Kreatinins auskrystallisirt. Man filtrirt, versetzt die Flüssigkeit mit einer siedenden Lösung von essigsaurem Kupfer in genügend grossem Ueberschuss und verdunstet im Wasserbad fast bis zur Trockne. Ob man einen Ueberschuss von essigsaurem Kupfer angewandt hat, erkennt man an der Farbe der zum Syrup verdunsteten Flüssigkeit. Der Abdampfungsrückstand wird in kaltem Wasser vertheilt und der schlammige Rückstand abfiltrirt. Er enthält die Kupferverbindungen des Xanthins, Sarkins und Guanins. (Auf das Adenin und die anderen Xanthinbasen hat Pouchet noch keine Rücksicht nehmen können.) Auch kann der Niederschlag etwas Leucinkupfer enthalten, wenn viel Leucin zugegen war und die Flüssigkeit vor dem

---

1) F. Hofmeister, Ztschr. f. physiol. Ch. 5. 67. 1881.

2) A. Gabriel Pouchet, Contributions à la connaissance des matières extractives de l'urine. Thèse. Paris 1880. Parent.

Zusatz des Kupferacetats nicht gut mit Essigsäure angesäuert war. Der Kupferniederschlag wird in siedender verdünnter Salzsäure gelöst, die Lösung mit Schwefelwasserstoff behandelt und das Filtrat eingedampft. In dem Maasse, als sich an der Oberfläche Krusten von salzsaurem Xanthin und Hypoxanthin bilden, werden diese mit einem Spatel entfernt. Die Krusten werden wieder in siedender verdünnter Salzsäure gelöst, die Lösung, zugleich zur Entfernung eines Restes von Phosphaten, mit Thierkohle entfärbt, mit Ammoniak übersättigt und die Basen mit salpetersaurem Silber gefällt. Das Xanthin wird dann vom Sarkin durch Salpetersäure von 1,1 Dichte in der gebräuchlichen Weise getrennt.

Ist durch weiteres Abdampfen das salzsaure Xanthin entfernt, so scheiden sich endlich, neben salzsaurem Hypoxanthin, nadelförmige Krystalle von salzsaurem Guanin aus. Man löst in heissem Wasser, entfärbt durch Kohle, versetzt mit soviel Natron, dass sich der Niederschlag wieder löst, säuert mit Essigsäure an und lässt 24 Stunden stehen. Beide Basen bilden einen leichten flockigen Niederschlag. Man giesst die Flüssigkeit von demselben ab und wäscht ihn mit Alkohol von 95⁰. Heisses Wasser löst das Hypoxanthin, das man durch Verdunsten der Lösung mehr oder minder gut krystallisirt erhält, während das Guanin als amorphes weisses Pulver zurückbleibt; zur weiteren Charakterisirung kann man es in das salzsaure oder salpetersaure Salz überführen.

Die kupferhaltige Mutterlauge wird stark mit Ammoniak, dann mit salpetersaurem Silber versetzt und 3—4 Tage in der Kälte stehen gelassen. Man findet dann einen leichten Niederschlag, der constant Carnin enthält, manchmal neben Allantoin. Man wäscht ihn gut mit verdünntem Ammoniak, dann mit Wasser und zersetzt ihn in Wasserbadwärme mit Schwefelwasserstoff. Das Filtrat wird mit Kohle entfärbt und dann in gelinder Wärme, besser im Vacuum, verdunstet. Es krystallisiren Carnin und Allantoin, die sich durch schwachen Alkohol trennen lassen; dieser löst das Allantoin mit nur Spuren Carnin. Das im Vacuum krystallisirte Carnin bildet unregelmässig strahlige Knollen.

II. Vorläufige Trennung der Basen.

1. In der Verbindung mit salpetersaurem Silber.

Die Verbindungen der Xanthinbasen mit Silberoxyd werden zunächst nach Neubauer, in möglichst wenig heisser Salpetersäure von 1,1 Dichte gelöst. Man bringt den Niederschlag in einen Glaskolben, schüttet etwas Harnstoff hinzu, dann die Salpetersäure, erhitzt auf dem Sand- oder Wasserbade, bis die Flüssigkeit gelb geworden und möglichst vollständige Lösung des Niederschlags eingetreten ist und filtrirt heiss (durch Glaswolle). Aus dem Filtrat scheiden sich innerhalb der ersten (zwölf) Stunden nach dem Filtriren Guanin (dieses sehr bald), Hypoxanthin, Adenin, Episarkin, Carnin, Epiguanin und die unbenannte Basis mit salpetersaurem Silber verbunden in mikroskopischen Krystalldrusen aus (Hypoxanthinfraction), während Xanthin und seine Homologen (Xanthinfraction) zunächst in Lösung bleiben. Bei tagelangem Stehen kann auch ein grösserer oder geringerer Theil dieser als Verbindungen mit Silbernitrat ausfallen.

Damit man mit dem gallertigen Silberoxyd-Niederschlag nicht unnütz viel Wasser mit der Salpetersäure zusammenbringt, lässt man das Filter mit dem Niederschlag so lang auf Fliesspapier liegen, bis man den noch feuchten Niederschlag mit Leichtigkeit abnehmen kann; das Filter behandelt man für sich mit der Salpetersäure. —

Beim Kochen mit der Salpetersäure wird der letzte Rest Harnsäure zerstört. — Harnstoff fügt man nach Kossel dem Silberniederschlag, der in der Salpetersäure gelöst werden soll, hinzu, um die sich bildende salpetrige Säure zu zersetzen, denn diese führt das Guanin im Xanthin, das Adenin in Hypoxanthin über; aber auch bei Zusatz grosser Mengen Harnstoff lässt sich die Zersetzung wenigstens des Adenins nicht ganz verhüten (Bruhns, Krüger[1]). Es sollte daher erst dann die Lösung des Silberniederschlags in Salpetersäure vorgenommen werden, wenn er von Farbstoff und anderen oxydablen Substanzen möglichst befreit ist, was durch wiederholtes Lösen und Fällen nach C. I. 1. b. u. c. (S. 363) anzustreben ist. Etwa noch vorhandenes Chlorsilber bleibt beim Kochen mit der Salpetersäure als schweres Pulver zurück. — Da sich das Guaninsilber nur sehr schwer in der verdünnten Salpetersäure löst, so kann auch von ihm ein Theil zurück bleiben. Statt dass man sogleich Alles in einem Ueberschuss von Salpetersäure zu lösen versucht, thut man besser, die mit einer kleinen Menge Säure erhaltene Lösung zunächst abzufiltriren und eine Probe des Rückstands auf seine Löslichkeit in Ammoniak zu prüfen. Tritt keine vollständige Lösung ein, besteht der Rückstand also nicht blos aus Chlorsilber, so kocht man ihn mit einer neuen Menge der verdünnten Salpetersäure aus, oder zieht die Basis durch Digestion aus dem gewaschenen Rückstand mit verdünnter Salzsäure aus. — Das Filtriren der heissen Lösung in Salpetersäure ist überflüssig; wenn man sich überzeugt hat, dass beim Kochen Alles, was sich überhaupt in der Salpetersäure lösen kann, gelöst hat, lässt man die Flüssigkeit die vorgeschriebene Zeit stehen. Dieses Verfahren hat den Vortheil, dass so schwer lösliche Verbindungen, wie die des Guanins, dem Nachweis weniger leicht entgehen.

Eine scharfe Trennung der Xanthinbasen in die genannten zwei Gruppen ist auf diese Weise nicht zu erreichen. Es hängt wesentlich von der Menge der zum Lösen verwendeten Salpetersäure ab, ob im Filtrat Xanthin und seine Homologen (als Verbindungen mit Silbernitrat) mit auskrystallisiren und ob wenigstens Hypoxanthin theilweise in Lösung bleibt. Durch (einmaliges) Umkrystallisiren der Hypoxanthinfraction aus Salpetersäure von 1,1 Dichte kann man den in ihr eingeschlossenen Antheil der Xanthinfraction in Lösung bringen.

Man filtrirt den beim Erkalten enstandenen Niederschlag ab und wäscht ihn zunächst mit der verdünnten Salpetersäure etwas nach. Beim Waschen des Niederschlages mit Wasser ist eine Zerlegung in seine Bestandtheile und Zurückbleiben von Xanthin im Niederschlag möglich. Filtrat (sammt Waschflüssigkeit) sowie Niederschlag werden gesondert weiter verarbeitet.

a. Verarbeitung der Lösung (Xanthinfraction).

α. Das Filtrat wird nach Salomon[2]) mit Ammoniak übersättigt, der Niederschlag durch Decantiren oder auf dem Filter gewaschen und mit Schwefelwasserstoff zerlegt. Man filtrirt heiss, dampft auf ein kleines Volumen ein und lässt nach Zusatz von etwas Ammoniak 12—24 St. stehen, wobei die letzten Spuren von Phosphaten, von Harnsäure und von Oxalat ausfallen. Das Filtrat wird nun weiter in einem Becherglas bis zum Eintritt einer diffusen Trübung eingeengt. Beim Erkalten scheidet sich das meiste Xanthin und Heteroxanthin ab, während das Paraxanthin mit dem übrigen Xanthin (und Heteroxanthin) in

---

1) Bruhns, Ztschr. f. physiol. Ch. **14**. 534. — Krüger, daselbst **21**. 282.
2) Salomon, Berichte d. chem. Gesellsch. **16**. 195; **18**. 3407; Zeitschr. f. klin. Med. a. a. O.

Lösung bleibt. Man filtrirt und concentrirt weiter, solang noch ein amorpher Niederschlag (von Xanthin) erfolgt, der entfernt werden muss. Zuletzt krystallisirt das Paraxanthin in den beschriebenen Formen aus. Die Krystalle werden abgepresst und aus heissem Wasser umkrystallisirt.

Es geschieht sehr oft, dass das Schwefelsilber mit durch das Filter geht; in solchem Falle verdampft man bis zur Trockne, zieht den Rückstand mit heissem Wasser aus und wiederholt das Verfahren so oft, bis die Lösung nicht mehr von Schwefelsilber getrübt ist. Wenn die Lösung sehr unrein ist, so kann die Krystallisation beim Eindampfen ausbleiben. In solchem Falle lässt man die Lösung bei Zimmertemperatur eintrocknen und erhält so manchmal sehr schöne Krystalle. Geschieht dies nicht, so löst man in viel Wasser, fällt mit stark verdünnter ammoniakalischer Silberlösung, wäscht den Niederschlag gut aus und verfährt wie vorher.

Dem Paraxanthin kann noch Heteroxanthin beigemengt sein. Um zu erfahren, ob dies der Fall ist, und um beide Basen zu trennen, löst man die Krystalle unter Zusatz von etwas Natronlauge in wenig heissem Wasser und lässt erkalten. Die sich dabei absetzenden Krystalle werden abgepresst, in Wasser gelöst und die Lösung mit Salzsäure neutralisirt; das Paraxanthin scheidet sich dabei in der ursprünglichen Krystallform, das Heteroxanthin amorph ab. Man löst den gewaschenen Niederschlag in wenig Salzsäure, wonach in etwa 48 St. das salzsaure Heteroxanthin in grossen farblosen Büscheln anschiesst, während das sehr leicht lösliche salzsaure Paraxanthin in der Mutterlauge bleibt. Diese wird mit Ammoniak eingedampft, der Rückstand ausgewaschen, in Ammoniak gelöst und die Lösung langsam eingeengt.

Um das Heteroxanthin, welches mit dem Xanthin beim Eindampfen zuerst ausgefallen ist, von diesem zu trennen, löst man Alles in ziemlich viel ammoniakhaltigem Wasser und dampft, wenn nöthig öfter, sehr mässig ein, bis sich nach 24 stündigem Stehen in der Kälte blättrige Krusten am Boden des Becherglases vorfinden. Sie kennzeichnen sich als Heteroxanthin dadurch, dass sie mit Natronlauge eine krystallinische Verbindung geben. Ist Heteroxanthin vorhanden, so wird die abgegossene Mutterlauge immer weiter eingedampft, bis die ausgeschiedenen Massen mit Natronlauge kaum noch einen Niederschlag geben. Man löst dann die gesammte Substanz in wenig heisser Natronlauge, presst nach 24 Stunden die ausgefallenen grossen Krystallbüschel ab, löst sie in Wasser und neutralisirt die Lösung mit Salzsäure, wobei das Heteroxanthin als amorphes Pulver ausfällt. Man wäscht den Niederschlag aus, löst ihn in Salzsäure und verfährt, wie oben für die Trennung des Heteroxanthins vom Paraxanthin angegeben ist.

Selbstverständlich braucht man die ursprüngliche ammoniakalische Lösung nicht bis zur gemeinsamen Ausscheidung des Xanthins und Heteroxanthins einzudampfen, sondern man kann auch sogleich zuerst das Heteroxanthin für sich auskrystallisiren lassen.

Als Balke[1]) das Bleisalz des rohen, aber anscheinend von seinen Homologen befreiten Xanthins mit Schwefelwasserstoff zersetzt hatte, schied sich aus dem stark verdünnten ammoniakalischen Filtrat beim Stehen Heteroxanthin in gleichseitigen sphärischen Dreiecken ab.

Das meist stark gefärbte Xanthin lässt sich nach Balke von dem hartnäckig haftenden Farbstoff leicht befreien, wenn man es in möglichst wenig Natronlauge löst, nur so lang Kohlensäure einleitet, dass sich die Nädelchen des Xanthin-Natrons abscheiden, und nun die ziemlich leicht lösliche Verbindung einige Male aus heissem Wasser umkrystallisirt. Essigsäure scheidet das Xanthin zuletzt in schneeweissen Flocken ab. Das Xanthin selbst erhält man aus diesem Präparat nach dem Verfahren von Horbaczewski[2]) krystallisirt.

Dazu löst man das Xanthin in wenig Lauge, filtrirt wenn nöthig, verdünnt die Lösung mit 60° warmem Wasser so, dass 1 g Xanthin in 2 Ltr. gelöst ist, und übersättigt mit Essigsäure. Trübt sich dabei die Lösung sogleich, so muss sie schnell durch ein Faltenfilter filtrirt werden. Bei mehrtägigem Stehen der Lösung in Zimmertemperatur krystallisirt das Xanthin in Drusen rhombischer Plättchen an der Wand und am Boden des Gefässes aus. Sie werden auf einem Filter nach einander mit Wasser, Alkohol, Aether gewaschen. Weniger vortheilhaft ist ein anderes Verfahren, bei welchem eine alkalische Lösung von 1 g Xanthin in 700—750 cc heissem Wasser mit 1/3 Vol. Alkohol vermischt und mit Essigsäure übersättigt wird; hier erfolgt die Krystallisation langsamer.

β. Für die Darstellung und den Nachweis des Xanthins und seiner Homologen im Kleinen (aus einigen Ltr. Harn) giebt Salomon[3]) noch folgende Vorschrift.

Nach der Zerlegung des ersten Silberniederschlags mit Schwefelwasserstoff wird das Filtrat zur Trockne verdunstet und der Rückstand nach Salkowski[4]) mit 30fach verdünnter Schwefelsäure erwärmt, welche die Xanthinbasen aufnimmt und die Harnsäure fast ganz zurücklässt. Die heiss filtrirte Lösung wird mit Ammoniak übersättigt, nach dem Erkalten wieder filtrirt und mit ammoniakalischer Silberlösung gefällt, der Niederschlag schwefelsäurefrei gewaschen, in heisser Salpetersäure von 1,1 Dichte gelöst und die Xanthinfraction nach II. 1. a. *α*. S. 366 weiter behandelt. Die Lösung der Xanthinbasen wird eingedampft.

Sind im Rückstand Krystalle, Körner oder Knollen vorhanden, so nimmt man sie, wenn nöthig unter Verflüssigung des Rückstands durch Anwärmen, heraus und versucht sie aus warmem Wasser umzukrystallisiren. Es sind zwei Fälle möglich; entweder scheiden sich Krystalle und Krystallaggregate aus, oder amorphe und knollige Massen. Das Auftreten von Krystallen in den typischen Formen des Paraxanthins beweist allein schon die Gegenwart dieser Basis; bestätigt wird sie dadurch, dass ein Krystall oder Korn sich nach dem Befeuchten mit Wasser in starker Natronlauge mit einem Krystallrasen überzieht.

Die amorphen Knollen können aus Paraxanthin, Heteroxanthin oder Xanthin bestehen. Man behandelt einen kleinen Theil der knolligen Masse mit Natronlauge und befreit die Krystalle, wenn sich solche ausscheiden, auf einer porösen Platte von der überschüssigen Lauge. Scheiden sich beim Eintragen der Krystalle in

---

1) Balke, Journ. f. prakt. Ch. [2] **47**. 545.

2) Balke, a. a. O. 558. — J. Horbaczewski, Ztschr. f. physiol. Ch. **23**. 226. 1897.

3) Salomon, Virchow's Archiv **125**. 562. 1891.

4) Salkowski, Virchow's Archiv **50**. 193. 1870.

eine Ammonsalzlösung Tafeln oder Büschel grosser Nadeln aus, so ist Paraxanthin nachgewiesen, fallen dagegen amorphe Massen aus, die allmählich Knollenform annehmen, so ist die Anwesenheit von Heteroxanthin wahrscheinlich. Um sich hierüber Gewissheit zu verschaffen, kocht man das ganze verfügbare Material mit wenig Wasser aus, löst den grösseren Theil des Ungelösten in verdünnter Natronlauge und lässt langsam verdunsten. Das Auftreten von doppelbrechenden Zwillingskrystallen beweist die Gegenwart von Heteroxanthin. Lösen sich die Körner leicht und schnell in wenig Natronlauge, so ist wahrscheinlich Xanthin vorhanden, worüber die Xanthinprobe Aufschluss verschafft.

Finden sich im Abdampfungsrückstand keine Körner vor, so spült man die vorher getrocknete Masse zur Entfernung der Ammonsalze mit Wasser ab, löst in wenig Natronlauge, lässt langsam verdunsten und untersucht weiter wie vorher.

γ. Trennung des Xanthins von der Harnsäure.

Wiewohl sich das Xanthin in Salzsäure löst, die Harnsäure aber nicht oder doch nur wenig, so lässt sich eine scharfe Trennung beider Körper doch nicht mittelst Salzsäure bewirken, weil die Löslichkeit des Xanthins in Salzsäure eine zu geringe ist und sich das Xanthin aus der Lösung leicht wieder abscheidet (Wulff). Die Unzulänglichkeit eines solchen Verfahrens ist von Horbaczewski[1]) durch quantitative Versuche erwiesen worden. Auch die Löslichkeit des Xanthins in Ammoniak und die Schwerlöslichkeit des sauren Ammonurats lässt sich für diesen Zweck nicht verwenden, da nach Horbaczewski aus einer Lösung von Harnsäure und Xanthin in wenig Natronlauge die Harnsäure auf Zusatz von Salmiak bei Weitem nicht vollständig ausfällt.

Wenn es darauf ankommt, das Xanthin vollständig von beigemengter Harnsäure zu trennen, so kann man sich einer der folgenden Methoden bedienen.

γ. *a.* Verfahren von Wulff[2]). Man versetzt das Gemeng auf 0,1 gr. Trockensubstanz mit 10 cc einer Salpetersäure, welche durch Verdünnen von 5 Thl. Salpetersäure von 1,4 Dichte auf 100 hergestellt ist, erwärmt unter Umschütteln im Wasserbad bis zur Beendigung der Gasentwicklung und kocht kurze Zeit auf. Bei Anwesenheit von viel Xanthin kann ein Theil desselben ungelöst bleiben. Man versetzt darauf die Flüssigkeit in geringem Ueberschuss mit (reinem) Ammoniak. Eine dabei zuweilen auftretende, von Oxydationsprodukten der Harnsäure herrührende Rothfärbung verschwindet beim Erwärmen auf Zusatz von noch etwas Ammoniak (die von rohem Ammoniak verursachte nicht). Fügt man dann schwach ammoniakalische Silberlösung hinzu, so entsteht bei Gegenwart von Xanthin ein voluminöser flockiger Niederschlag von Xanthinsilber. Tritt dieser Niederschlag auch nach einiger Zeit nicht ein, so können immer noch geringe Mengen Xanthin in der ammoniakalischen Flüssigkeit gelöst enthalten sein. Man stumpft dann das Ammoniak, selbst bis zur neutralen Reaction, mit Salpetersäure ab, von etwa ausfallenden geringen Mengen Chlorsilber, das sich fest am Boden absetzt, lässt sich dann immer noch das flockige Xanthinsilber unterscheiden. Es lassen sich so noch 5 mg Xanthin neben 1 g Harnsäure nachweisen.

Das Verfahren ist, abgesehen von geringen Verlusten, quantitativ genau und eignet sich für die Bestimmung des Xanthins. Kleine Mengen werden (nach

---

[1]) J. Horbaczewski, Ztschr. f. physiol. Ch. 18. 343. 1893.
[2]) C. Wulff, Ztschr. f. physiol. Ch. 17. 640. 1893.

dem Auswaschen und Trocknen bei 120⁰) als Xanthinsilber gewogen oder aus dem beim Glühen zurückbleibenden metallischen Silber berechnet. Grössere Mengen bestimmt man direkt, indem man nach der Oxydation die Flüssigkeit mit Ammoniak schwach alkalisch macht, auf dem Wasserbad kurze Zeit erwärmt, mit Essigsäure ansäuert und das gleiche Volumen Alkohol hinzusetzt. Nach 12 St. wird das Xanthinsilber abfiltrirt, mit alkoholhaltigem Wasser gewaschen und bei 110⁰ getrocknet.

Das Verfahren wird genau nach der Vorschrift zu befolgen sein. Salkowski[1]) nahm bei der Behandlung der (gesammten) Xanthinbasen aus Harn mit Salpetersäure wahr, dass um so weniger von ihnen erhalten wurde, unter Umständen fast Nichts, je mehr Salpetersäure verwendet wurde und je länger das Erhitzen dauerte.

Bei diesem Verfahren wird die Harnsäure zerstört. Eine Scheidung unter Erhaltung der Harnsäure lässt sich durch Schwefelsäure erreichen.

γ β. Nach Salkowski[2]) wird die trockne Substanz mit 2—3 proc. Schwefelsäure erwärmt, am nächsten Tag filtrirt, mit Ammoniak übersättigt, von etwa ausfallendem Ammonurat abfiltrirt und nun mit ammoniakalischer Silberlösung gefällt. Dieses Verfahren ist unsicher. Dagegen giebt das folgende gute Resultate.

γ γ. Nach Horbaczewski[3]) wird das Gemeng bei 110⁰ getrocknet, auf 0,1 g in einem Platinschälchen mit 2 cc reiner Schwefelsäure übergossen und unter gelindem Erwärmen gelöst. Der Lösung fügt man die vierfache Menge Wasser zu, rührt fleissig bis zur beginnenden Abscheidung der Harnsäure, filtrirt nach 3—6 Stunden durch ein ganz kleines Filter, und wäscht erst mit schwefelsäurehaltigem Wasser, dann mit reinem. Zur Entfernung einer Spur anhaftenden Xanthins löst man die Harnsäure in dem Platinschälchen in Natronlauge e natrio, säuert mit Salzsäure an, dampft auf einige cc ein und kann dann die Harnsäure nach 1 St. abfiltriren. Die geringe Menge Harnsäure, welche sich neben dem Xanthin noch in Lösung befindet, lässt sich (nach γ α) mit Salpetersäure zerstören.

Auch dieses Verfahren ist zur quantitativen Bestimmung des Xanthins und ausserdem der Harnsäure tauglich. Die Harnsäure wird dazu auf einem Glaswollfilter mit sehr verdünnter Salzsäure, mit Wasser, Alkohol, Aether gewaschen und bei 110⁰ getrocknet. Man findet ungefähr 3 % zu wenig.

b. Untersuchung der Hypoxanthinfraction.

Für diese giebt es keine so erschöpfende Vorschrift, wie für die Untersuchung der Xanthinfraction. Es liegen einzelne gelegentliche Beobachtungen vor und sind Versuche zur Trennung immer nur einiger der Basen dieser Fraction, aber begreiflicher Weise nicht aller auf einmal neben einander angestellt worden.

Der Niederschlag kann zur Entfernung etwa noch beigemengter Reste der Xanthinfraction noch einmal aus Salpetersäure von 1,1 Dichte umkrystallisirt werden, unter Zusatz von Silbernitrat, weil sich das Hypoxanthin-Silbernitrat dann viel schwerer löst, als in reiner Salpetersäure.

Die Zersetzung kann nach dem älteren Verfahren in der Weise vorgenommen werden, dass man den Niederschlag zuerst zur Ueberführung der Verbindungen $X . AgNO_3$ in solche von $X . Ag_2O$ unter Zusatz von Silbernitrat mit Ammoniak

---

1) Salkowski, Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1894. 515.
2) Salkowski, Virchow's Archiv **50**. 193 und a. a. O.
3) Horbaczewski, a. a. O. 344.

digerirt, das Umwandlungsprodukt silberfrei wäscht und dann mit Schwefelwasserstoff behandelt, wobei die schwer löslichen Basen wenigstens zum Theil bei dem Schwefelsilber zurückbleiben können und diesem durch Lösungsmittel entzogen werden müssen. Schindler[1]) zerlegt den Niederschlag mit Schwefelammon, um das Schwefelsilber in abfiltrirbarem Zustand zu erhalten, in der Weise, dass er dem in heissem Wasser suspendirten Niederschlag tropfenweise, unter Vermeidung eines zu grossen Ueberschusses, eine schwache Schwefelammonlösung (aus 4proc. Ammoniak) hinzufügt und das Schwefelsilber sich in der Wärme absetzen lässt. Auch so braucht nicht alles Guanin in Lösung zu gehen. Noch besser wäre in dieser Hinsicht die Behandlung des Niederschlages mit Schwefelnatrium.

Man kann auch, wie Kossel, die Silbernitratverbindung sogleich mit Schwefelwasserstoff behandeln, was den Vortheil darbietet, dass die frei werdende Salpetersäure die Basen in Lösung bringt. Bruhns[2]) empfiehlt, den Niederschlag durch Salzsäure zu zersetzen, was bei gehöriger Verdünnung sehr wohl geschehen könne, ohne dass man Gefahr laufe, Guanin in Xanthin und Adenin in Hypoxanthin umzuwandeln; nur lassen sich nach ihm die Basen dem klumpig gewordenen Chlorsilber durch Auskochen mit Säure nur schwer vollständig entziehen (vergl. S. 363). Diese zwei letzteren Methoden verdienen den Vorzug, weil sie einfacher und zweckmässiger sind als das ältere Verfahren.

Hat man bei der Zersetzung des Silberniederschlags eine saure Lösung erhalten, so übersättigt man diese schwach mit Ammoniak, wobei Guanin und Epiguanin ausfallen können. Beim Verdunsten der übrigen ammoniakalischen Lösung scheiden sich dann ab das Adenin, Episarkin und Hypoxanthin; diejenige Basis zuerst, welche zuerst die Flüssigkeit sättigt. Man kann diese Basen in Chloride oder Sulphate verwandeln und durch fractionirte Krystallisation zu trennen versuchen. Besser wird man aber durch Benutzung andrer ihrer Eigenschaften als die verschiedene Löslichkeit ihrer Salze zum Ziele gelangen.

Guanin. Von etwa beigemengter Harnsäure lässt sich das Guanin nach Horbaczewski[3]) sehr genau befreien mittelst desselben Verfahrens (S. 370) wie das Xanthin. — Vom Epiguanin lässt es sich trennen durch heisses Wasser, schneller aber weniger vollkommen durch verdünntes Ammoniak, wobei das Epiguanin in Lösung geht und dann wieder auskrystallisirt. Beide Basen unterscheiden sich schon dadurch, dass das Guanin dabei amorph, das Epiguanin krystallinisch gewonnen wird. Das krystallisirte Guanin besitzt ganz andere Formen al 'as Epiguanin. Das Guanin ist ausserdem charakterisirt durch das makroskopische Chlorid (und das Sulphat), das Epiguanin nach Krüger durch das Chloroplatinat. Die Pikrate beider Basen besitzen verschiedene Gestalt, beide Basen geben die Xanthinreaction, aber nicht die Weidel-sche Probe. — Vom Adenin ist das Guanin verschieden durch die krystallinische Beschaffenheit des Adenins, die grössere Löslichkeit dieses in Ammoniak und dadurch, dass es mit Goldchlorid kein Aurochlorat

---

1) S. Schindler, Ztschr. f. physiol. Ch. **13**. 433. 1889.
2) Kossel, daselbst **10**. 251. — Bruhns, daselbst **14**. 551 und 560.
3) Horbaczewski, daselbst **18**. 348.

iefert, wie das Adenin. Die Pikrate beider sind schwer löslich. Eine Trennung beider ist nach Wulff[1]) möglich, wenn man die stark saure Lösung mit Metaphosphorsäure versetzt, oder wenn man mit überschüssiger Metaphosphorsäure fällt; unter diesen Umständen scheidet sich das Guanin als Metaphosphat ab, das Adenin dagegen nicht. Das Guanin giebt die Xanthinprobe, das Adenin nicht. — Vom Hypoxanthin lässt sich das Guanin nicht mittelst Pikrinsäure trennen, weil beide Pikrate schwer löslich sind und beide langsam ausfallen, wohl aber durch Metaphosphorsäure; das Guanin wird niedergeschlagen, das Hypoxanthin nicht. Aus dem Filtrat lässt sich das Hypoxanthin als Silberpikrat abscheiden, oder besser mit ammoniakalischer Silberlösung (Wulff.)

Adenin. Die wasserhaltigen Krystalle des Adenins trüben sich bei 53°. Vom Hypoxanthin, welches amorph ist, lässt es sich als Pikrat trennen, auch in der Verbindung beider. Das Hypoxanthinpikrat ist zwar auch schwer löslich, scheidet sich aber langsamer aus. Das Adenin fällt nach Bruhns aus neutraler oder schwach saurer Lösung namentlich in Gegenwart von Natriumpikrat vollständig aus; man versetzt zur Fällung entweder die wässrige Lösung beider Basen mit wässriger Pikrinsäurelösung, oder besser die salzsaure Lösung mit einem Ueberschuss von Natriumpikrat. Es ist aber nach Wulff nur dann Aussicht auf ein Gelingen der Trennung, wenn der Gehalt der Lösung nur gering (die Lösung verdünnt) ist, und wenn man nach der Fällung sogleich filtrirt. Aus dem Filtrat lässt sich nach Bruhns das Hypoxanthin durch ammoniakalische Silberlösung gewinnen, oder aus der ganz neutralen pikrinsäurehaltigen Lösung durch Silbernitrat. Das Adenin wird zwar in der Kälte von Kupfersulphat und Thiosulphat als Kupferoxydulverbindung niedergeschlagen, das Hypoxanthin aber nicht, gleichwohl lassen sich die Basen auf Grund dieses Verhaltens nicht trennen; denn aus einer Lösung beider freien Basen nebeneinander fällt nach Krüger[2]) mit dem Adenin auch ein Theil des Hypoxanthins aus und lässt man das Reagens auf Salze der Basen einwirken, so ist die Fällung des Adenins nicht vollständig. Das Adenin giebt ein gut krystallisirendes Aurochlorat, das Hypoxanthin nicht; die Platinsalze beider sind dagegen krystallinisch. Beide Basen geben weder die Xanthinprobe noch die Weidel'sche Reaction, aber bei beiden tritt Braunfärbung ein, wenn ihre Lösung nach dem Behandeln mit Zink und Salzsäure alkalisch gemacht wird.

---

[1]) Wulff, Ztschr. f. physiol. Ch. 17. 504.

[2]) Bruhns, daselbst 14. 538. — Wulff, das. 17. 499. — Bruhns, a. a. O. 557. — [3]) Krüger, Ztschr. f. physiol. Ch. 20. 375.

Hypoxanthin. Aus der Lösung eines Gemenges von Hypoxanthin und Episarkin in wenig verdünntem Ammoniak fällt das Episarkin nach Balke beim Einleiten von Kohlensäure in wetzsteinförmigen Nädelchen aus, welche aus heissem Wasser wieder in grossen Prismen krystallisiren. Eine concentrirte Lösung beider in Salzsäure scheidet nach Salomon[1]) beim Uebersättigen mit Ammoniak sogleich Episarkinkrystalle ab. Das Pikrat des Episarkins ist zum Unterschied von dem des Hypoxanthins leicht löslich. Das Episarkin giebt, wie das Hypoxanthin, die Xanthinprobe nicht und die Weidel'sche Probe nur dann, wenn sie mit Salzsäure und Chlorat angestellt wird. Beim Behandeln mit Zink und Salzsäure verhält es sich nicht wie das Hypoxanthin.

Die Mutterlauge, welche nach dem Auskrystallisiren der Xanthinbasen aus der ammoniakalischen Lösung übrig bleibt, prüft man mit Pikrinsäure oder mit ammoniakalischer Silberlösung auf noch in Lösung gebliebene Basen.

Das Carnin erhält man aus den Mutterlaugen nach Weidel[2]) durch Fällen derselben mit Bleiessig, Auskochen des Niederschlags mit Wasser und Behandeln des Auszugs mit Schwefelwasserstoff.

Aus den Pikraten gewinnt man die freie Basis durch Behandeln des Salzes mit Ammoniak, wenn die Basis (Guanin) darin schwer löslich ist, oder durch Ausschütteln der Pikrinsäure aus dem mit Schwefelsäure oder Salzsäure zersetzten Salz durch Aether, oder durch Digestion des Pikrats mit ammoniakalischer Silberlösung. Bei grösseren Mengen Pikrat ist es nach Krüger[3]) zweckmässiger, dasselbe in heissem verdünnten Ammoniak zu lösen und nach dem Erkalten mit ammoniakalischer Kupferlösung auszufällen, wodurch die Hauptmenge der Pikrinsäure entfernt wird. Das Filtrat wird zur Trockne verdunstet, der Rückstand in Schwefelsäure gelöst, das Kupfer durch Schwefelwasserstoff, und im Filtrat der Rest der Pikrinsäure durch Aether entfernt.

Eine Vorschrift zur Darstellung von Xanthin aus Guanin ist von E. Fischer, eine solche zur Darstellung von Hypoxanthin aus Adenin von Kossel und von Krüger[4]) angegeben.

§ 35. Nucleinsäure.

A. *Vorkommen.* Im Harn findet sich nach K. A. H. Mörner[5]) Nucleinsäure in sehr kleiner Menge, in geringerer als die Chondroitinschwefelsäure, wie es scheint in grösserer Menge als von dem vorhandenen Eiweiss gebunden werden kann. Bisweilen scheint sie zu fehlen.

---

1) Balke, Journ. f. prakt. Ch. [2] **47**. 563. — Salomon, Ztschr. f. physiol. Ch. **18**. 209.
2) Weidel, Ann. d. Ch. u. Pharm. **158**. 356.
3) Krüger, Ztschr. f. physiol. Ch. **16**. 163.
4) E. Fischer, Ann. d. Ch. **215**. 309. 1882. — Kossel, Zeitschr. f. physiol. Ch. **10**. 258. — Krüger, das. **18**. 444.
5) K. A. H. Mörner, Skandin. Archiv **6**. 372. 1895.

In der Niere ist Nucleoalbumin von Lönnberg, sowie von Halliburton und Brodie[1]) nachgewiesen worden.

B. *Eigenschaften.* 1. Die Nucleinsäuren sind Verbindungen von Phosphorsäure, Xanthinbasen und einer stickstofffreien Substanz, als welche bei einigen Pentose (nach dem Schmelzpunkt des Osazons) und Hexose erkannt worden sind. Der Gehalt an Phosphor beträgt über 9,5 %.

Die Xanthinbasen sind in den Nucleinsäuren in einer Form enthalten, in welcher sie nicht unmittelbar nachgewiesen werden können.

2. Sie sind amorph, reagiren stark sauer, lösen sich in Ammoniak und den Hydraten der fixen Alkalien und werden aus diesen Lösungen nicht durch Essigsäure, aber durch geringe Mengen Salzsäure (bis 0,3 %) gefällt. Alkohol fällt sie in Gegenwart von Salzsäure vollständiger als Wasser. Eisessig in grossem Ueberschuss giebt mit Nucleinsäure einen Niederschlag (Mörner).

3. Sie fällen Eiweiss sowie Leim aus saurer Lösung, Albumosen weniger vollständig, Pepton (Kühne) gar nicht. Nach Kutscher[2]) giebt die neutrale Lösung eines Nucleinsäuresalzes mit wässriger Albumoselösung einen Niederschlag von Nuclein. Mit dem Eiweiss verbinden sich die Nucleinsäuren in mehreren Verhältnissen. Die eiweissreichen Verbindungen werden als Nucleoalbumin (Nucleoproteide), die eiweissärmeren als Nucleine bezeichnet.

a. Die natürlich vorkommenden Nucleoalbumine enthalten bis ungefähr 1,5 % Phosphor, sind amorph, lösen sich nicht in Wasser, aber in schwachen Neutralsalzlösungen, werden durch Sättigen ihrer Lösungen mit Ammonsulphat vollständig, mit Magnesiumsulphat oder Chlornatrium unvollständig gefällt. Sie lösen sich ferner in Alkalihydrat und in Alkalicarbonat und können durch Säuren aus diesen Lösungen gefällt werden; auch lösen sie sich in Essigsäure und in verdünnten Mineralsäuren (0,25 p. m. Salzsäure), wodurch sie sich von den Nucleinen unterscheiden. Die Lösungen in Salzwasser geben beim Erwärmen Niederschläge, indem sich coagulirtes Eiweiss abspaltet. Sie werden durch alle Fällungsmittel der Eiweisskörper gefällt und geben alle Farbenreactionen der Eiweisssubstanzen. Bei wiederholtem Auflösen und Fällen zersetzen sie sich unter Abspaltung eines phosphorreicheren Antheils. Unter der Einwirkung von Pepsinsalzsäure verlieren sie Eiweiss und es scheidet sich das eiweissärmere in der Verdauungssalzsäure unlösliche Nuclein ab. Beim Erhitzen mit mässig ver-

---

1) F. Lönnberg, Jahresb. Thierch. 1890. 11; Skand. Archiv 3. 1. 1892. — W. D. Halliburton, Journ. of Physiol. 13. 806. 1892; Halliburton u. T. G. Brodie, das. 17. 135. 1894.

2) Fr. Kutscher, Ztschr. f. physiol. Ch. 23. 118. 1897.

dünnter Mineralsäure liefern einige derselben unter Braunfärbung eine Kupferoxyd in alkalischer Lösung reducirende Substanz, und diese Zersetzung kann bereits bei mehrstündigem Erwärmen (mit 3 proc. Schwefelsäure) im Wasserbad eintreten. Ein aus einem Harn spontan ausgefallenes Nucleoalbumin mit 1,79 % Phosphor vertrug jedoch nach Salkowski[1]) halbstündiges Kochen mit ungefähr 8 proc. Salzsäure, ohne diese Zersetzung zu erleiden. Erhitzen mit verdünnter Säure setzt zugleich die Xanthinbasen in Freiheit.

b. Die wenig untersuchten Nucleine scheiden sich bei der Verdauung der Nucleoalbumine mit Magensaft als amorphe Niederschläge ab. Sie lösen sich wenig in Wasser, sind in Alkalihydrat (auch in Ammoniak), in Alkalicarbonat und in Alkaliphosphat löslich und werden aus diesen Lösungen durch Säuren gefällt. In Essigsäure und in verdünnten Mineralsäuren lösen sie sich, zum Unterschied von den Nucleoalbuminen, nicht, wohl aber in concentrirten Mineralsäuren.

c. Wie die natürlichen Eiweissverbindungen der Nucleinsäure, so unterscheiden sich auch die künstlichen nach ihrem Gehalt an Eiweiss durch ihre Löslichkeit in Säuren.

Versetzt man nach Mörner eine Nucleinsäurelösung mit viel Eiweiss (Blutserum oder Eieralbumin), etwa dem Fünffachen der Nucleinsäure, so giebt Essigsäure einen Niederschlag, der sich nach dem Waschen und abermaliger Fällung aus ammoniakalischer Lösung wie Nucleoalbumin schon bei einem Zusatz von 0,4 % Essigsäure vollständig und auch sehr leicht in Salzsäure löst. Ein mit mehr Nucleinsäure bereiteter Niederschlag aus Blutserum löst sich dagegen selbst in 5 proc. Essigsäure nicht und nicht in Salzsäure bei einem Gehalt von 0,4 %, verhält sich also wie Nuclein. Ein aus Eieralbumin mit überschüssiger Nucleinsäure bereiteter Niederschlag löste sich schon in Salzsäure von 0,2 %.

d. Aus salzarmem Harn wird nach Mörner Eiweiss durch Nucleinsäure ebenso gefällt, wie aus wässriger Lösung.

Für diesen Versuch wurde der Harn von der immer in ihm enthaltenen eiweissfällenden Substanz befreit; er wurde dialysirt, bis er nur noch wenig Chloride enthielt, bis zu 0,2 % mit Essigsäure versetzt, mit Chloroform kräftig geschüttelt und das Filtrat mit überschüssigem Serumalbumin ausgefällt. Die abermals filtrirte Flüssigkeit gab mit Nucleinsäure jetzt einen Niederschlag, welcher nach dem Trocknen 1,06 % Phosphor (und 1,64 % Schwefel) enthielt.

4. Die Nucleinsäure giebt weder die Fällungs- noch die Farbenreactionen des Eiweisses.

Nach Mörner giebt sie die Biuretreaction nicht; sie wird zwar durch das Millon'sche Reagens gefällt, der Niederschlag wird aber beim Kochen nicht gefärbt, sondern bleibt weiss.

5. Beim Erhitzen der Nucleinsäuren mit verdünnter Mineralsäure entsteht unter gleichzeitiger Abspaltung der Xanthinbasen, wenigstens

---

1) Salkowski, Virchow's Archiv. **131**. 320. 1893.

bei einigen derselben, eine Kupferoxyd in alkalischer Lösung reducirende Substanz (Kohlenhydrat).

C. *Nachweis.* Man hat zunächst die Nucleinsäure aus dem Harn abzuscheiden und diesem Zweck dient dasselbe Verfahren, durch welches die Chondroitinschwefelsäure aus dem Harn gewonnen wird (§ 18. C. S. 214). Beide Säuren werden so nebeneinander als Eiweissverbindungen erhalten, und ihnen kann sich, sicher bei icterischem Harn, auch taurocholsaures Eiweiss beigesellen. Der Nachweis gründet sich auf den Gehalt der Nucleinsäure an Phosphorsäure und an Xanthinbasen:

Um die Phosphorsäure aufzufinden, muss der Niederschlag mit Soda und Salpeter geschmolzen und die Lösung mit molybdänsaurem Ammon in salpetersaurer Lösung geprüft werden. Dieser blos qualitative Nachweis hat aber nur dann Werth, wenn das untersuchte Präparat beim Verbrennen für sich keine oder nur Spuren Asche hinterlässt; denn die in der Schmelze gefundene Phosphorsäure kann auch den das Präparat begleitenden anorganischen Salzen entstammen. Einem hieraus entspringenden Irrthum entgeht man durch gleichzeitige quantitative Bestimmung der Asche und der Phosphorsäure; ist die Menge der Phosphorsäure grösser, als in Kalkphosphat von dem Gewicht der Asche enthalten sein kann, so ist man zu der Annahme berechtigt, dass wenigstens der Ueberschuss als Nucleinsäure vorhanden war, um so mehr, als in die Asche ja auch die Schwefelsäure der Chondroitinschwefelsäure und andere anorganische Stoffen eingehen. — Der Niederschlag, welcher bei der Pepsinverdauung des unmittelbar aus dem Harn gewonnenen Präparats entsteht, muss reicher an Phosphorsäure sein, als das ursprüngliche Präparat. Kann man mit beiden Niederschlägen Phosphorsäurebestimmungen ausführen und entspricht der Befund der soeben gemachten Voraussetzung, so ist eine Irrung durch den Aschegehalt des Präparats ausgeschlossen. Eine Verunreinigung der Harnniederschläge durch das gleichfalls phosphorhaltige Lecithin ist nicht ernstlich zu fürchten.

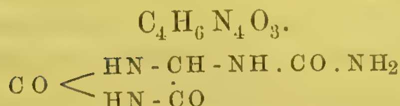
Da der Niederschlag zum bei Weitem grössern Theil aus chrodroitinschwefelsaurem Eiweiss besteht, so ist in den Niederschlägen aus dem Harn nur wenig Phosphorsäure zu erwarten, keineswegs soviel, als das reine Nucleoalbumin oder Nuclein enthält. Mörner fand in dem direkt aus Harn erhaltenen Niederschlag 0,04—0,2 %, in dem Verdauungsniederschlag 0,4—1 % Phosphor.

Der Nachweis von Xanthinbasen in den Niederschlägen bestätigt nicht blos den aus der Gegenwart der Phosphorsäure gezogenen Schluss in erwünschter Weise, sondern er allein genügt für den Nachweis der Nucleinsäure. Mörner verfuhr dabei in folgender Weise. Es wurde der mittelst Serumalbumin aus 8,5 Ltr. normalem Harn und der direkt aus 1 und 3,6 Ltr. eiweisshaltigem Harn (nach Scarlatina) erhaltene Niederschlag mit 0,1 normaler Schwefelsäure erhitzt, die neutralisirte Lösung mit Bleiessig gefällt, das überschüssige Blei mit Schwefelwasserstoff entfernt und das Filtrat eingedampft. Dieses gab mit ammoniakalischer Silberlösung einen Niederschlag, der nach dem Waschen in einigen Tropfen Salpetersäure von 1,1 Dichte gelöst wurde. Beim Erkalten schieden sich Nadeln und Gruppen von Nadeln aus.

Das Auftreten eines Niederschlags bei der Verdauung des Niederschlags aus dem Harn allein beweist Nichts für die Anwesenheit von Nucleoalbumin, denn ein solcher entsteht auch bei der Verdauung von Eiweiss in Gegenwart von Chondroitinschwefelsäure, von Taurocholsäure und Metaphosphorsäure; die Chondroitinschwefelsäure ist aber immer in dem Eiweissniederschlag aus Harn enthalten, während die Nucleïnsäure fehlen kann.

§ 36. Allantoin.

$C_4H_6N_4O_3$.



A. *Vorkommen.* Das Allantoin findet sich in der Allantoisflüssigkeit der Kühe (Vauquelin, Lassaigne) sowie im Harn saugender oder mit Milch genährter Kälber (Wöhler). Es soll ferner im Kindswasser oder im Harn neugeborner Kinder innerhalb der ersten 8 Tage nach der Geburt, im Harn Schwangerer (Gusserow) und selbst im Harn von Männern (Ziegler und Hermann[1]) vorkommen. Im Harn der Hunde, Katzen, Kaninchen tritt es zuweilen als normaler Bestandtheil auf (Meissner).

Pouchet bestätigt das Vorkommen kleiner Mengen Allantoin im Harn des Mannes und das constante grösserer Mengen in dem schwangerer Frauen; in erheblicherer Menge fand es Pouchet in einem Fall von Diabetes insipidus und in einem Fall von convulsivischer Hysterie. — Meissner traf Allantoin in kleiner Menge im Harn eines Hundes und mehrerer Katzen bei animalischem Futter an, noch mehr im Harn dreier Hunde bei Fütterung mit Brod, keins dagegen bei Fütterung mit Erdäpfeln und Fett. Auch im Harn zweier mit Gras gefütterter, nicht trächtiger Kaninchen fand es sich vor. Für den Hund bestätigte Salkowski diese Beobachtungen. In reichlicher Menge ist es von Borissow im Harn von Hunden in den ersten Stunden nach der Vergiftung mit Hydrazinsulphat gefunden worden. Schon vorher hatten Frerichs und Staedeler bei einem künstlich dyspnoetisch gemachten Hunde und Köhler[2]) bei dergleichen Kaninchen mit Bestimmtheit Allantoin im Harn nachgewiesen. Dagegen fanden weder Frerichs und Staedeler noch Köhler im Harn einer grösseren Anzahl an Respirationsstörungen leidender Menschen Allantoin.

B. *Eigenschaften.* — 1. Dass Allantoin krystallisirt rein in grossen monoklinen Prismen mit hexagonaler Grundform, die oft zu sternförmigen Drusen vereinigt sind, unrein aber auch in Warzen und Körnern. Es reagirt neutral, löst sich schwer in kaltem Wasser (bei 20° nach Liebig und Wöhler in 160, nach Schulze und Barbieri in 186 Thln.), leichter in (30 Theilen) heissem, leicht in Laugen, in Piperazinlösung nach Salkowski leichter als in Wasser. In kaltem absoluten Alkohol löst es sich nicht, aber in heissem, nicht in Aether. Es bräunt sich nach Borissow[3]) über 220° und schmilzt unter Gasentwicklung bei 231°.

---

[1]) Vauquelin, Ann. d. Ch. und Pharm. **33**. 269. 1840. — Lassaigne, Ann. de chimie et de phys. **17**. 301. — Wöhler, Ann. d. Ch. u. Pharm. **70**. 229. — Gusserow, Archiv f. Gynäkologie **3**. 269. 1871. — Ziegler u. Hermann, bei Gusserow.

[2]) A. G. Pouchet, Contrib. à la connaiss. des mat. extr. de l'urine. Paris 1880. 28 und 37. — G. Meissner, Ztschr. f. rat. Med. [3] **31**. 303. 1868. — E. Salkowski, Berichte d. chem. Gesellsch. **11**, 500. 1878. — Borissow, Ztschr. f. physiol. Ch. **19**. 499. 1894. — Frerichs u. Staedeler, Archiv f. Anat. u. Physiol. 1854. 393. — H. Köhler, Ztschr. d. gesammten Naturw. 1857. 336; Schmidt's Jahrbb. **104**. 31.

[3]) Salkowski, Pflüger's Arch. **56**. 350. 1894. — Borissow, a. a. O. 501.

2. Es verbindet sich mit Basen und mit Säuren zu Salzen. Von diesen Verbindungen sind namentlich die mit Silberoxyd und mit Quecksilberoxyd für den Nachweis des Allantoins wichtig. Durch die Bleiacetate sowie durch Phosphorwolframsäure wird es nicht gefällt.

a. Allantoin-Silber, $C_4H_5AgN_4O_3$. Eine wässrige Allantoinlösung giebt mit salpetersaurem Silber keinen Niederschlag, wohl aber bei vorsichtigem Zusatz von Ammoniak, nach



$$C_4H_6N_4O_3 + AgNO_3 + H_4N.HO = C_4H_5AgN_4O_3 + H_4N.NO_3 + H_2O.$$

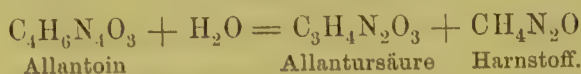
Der weisse Niederschlag löst sich leicht in Salpetersäure und in Ammoniak und tritt bei genauer Neutralisation der Lösungen wieder auf. Er besteht aus sehr kleinen durchsichtigen structurlosen mikroskopischen Tröpfchen und erscheint in grösseren Massen flockig. Die ammoniakalische Lösung des Niederschlags verändert sich beim Kochen nicht und giebt nachher beim Neutralisiren den ursprünglichen Niederschlag wieder.

b. Allantoin-Quecksilberoxyd. Salpetersaures Quecksilberoxyd giebt mit Allantoinlösung sofort einen flockigen weissen Niederschlag, der sich anfangs beim Umschütteln, namentlich beim Erwärmen, wieder löst. Die Lösung bleibt auf Zusatz von kohlensaurem Natron klar, scheidet aber bei vorsichtigem Zusatz von Natronlauge einen weissen Niederschlag ab, der sich in einem Ueberschuss der Lauge löst und sofort, namentlich schnell beim Erwärmen, metallisches Quecksilber absetzt. Fügt man zu einer Allantoinlösung sogleich reichlich salpetersaures Quecksilberoxyd, so entsteht ein dauernder, im Ueberschuss des Reagens nicht sichtlich, aber in Salpetersäure löslicher Niederschlag.

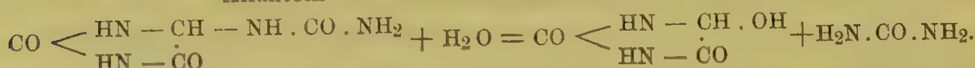
Quecksilberchlorid giebt mit Allantoin keinen Niederschlag, ebenso nicht auf nachträglichen Zusatz von kohlensaurem Natron, wohl aber bei Zusatz von Natriumhydrat einen im Reagens löslichen Niederschlag, dessen alkalische Lösung gleichfalls unter Abscheidung von metallischem Quecksilber trüb und grau wird.

Mit Kupferoxydul bildet es keine unlösliche Verbindung (Krüger[1]).

3. Beim Erhitzen mit Salzsäure und anderen Säuren zerfällt das Allantoin in Allantursäure und Harnstoff:



$$\underset{\text{Allantoin}}{C_4H_6N_4O_3} + H_2O = \underset{\text{Allantursäure}}{C_3H_4N_2O_3} + \underset{\text{Harnstoff.}}{CH_4N_2O}$$



$$CO \begin{matrix} \diagup HN - CH - NH.CO.NH_2 \\ \diagdown HN - CO \end{matrix} + H_2O = CO \begin{matrix} \diagup HN - CH.OH \\ \diagdown HN - CO \end{matrix} + H_2N.CO.NH_2.$$

Es giebt bei der Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl sowie bei Erhitzen mit Phosphorsäure auf 150° nach Schöndorff[2]) allen Stickstoff als Ammoniak ab.

4. Eine frisch bereitete Lösung von Allantoin in Natron- oder Kalilauge giebt beim Uebersättigen mit Säure (Essigsäure) sofort einen Niederschlag von Allantoin, nach mehrtägigem Stehen aber nicht mehr; sie enthält dann Allantoinsäure, $C_4H_8N_4O_4 = \begin{matrix} CH.OH - NH.CO.NH_2 \\ CO - NH.CO.NH_2 \end{matrix}$.

Beim Kochen mit Alkalien oder Barytwasser liefert Allantoin, wie bei der Zersetzung mit Säuren, gleichfalls zunächst Allantursäure und

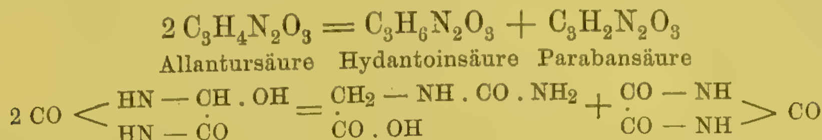
---

1) M. Krüger, Ztschr. f. physiol. Ch. 21. 313. 1895.
2) B. Schöndorff, Pflüger's Archiv 62. 34. 1895.

Harnstoff, die Allantursäure zerfällt aber weiterhin in Hydantoinsäure und Parabansäure:

$$2\,C_3H_4N_2O_3 = C_3H_6N_2O_3 + C_3H_2N_2O_3$$

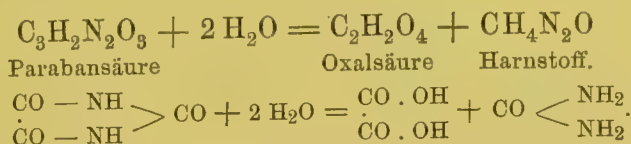
Allantursäure Hydantoinsäure Parabansäure



und die Parabansäure endlich in Oxalsäure und Harnstoff:

$$C_3H_2N_2O_3 + 2\,H_2O = C_2H_2O_4 + CH_4N_2O$$

Parabansäure Oxalsäure Harnstoff.



Würde die Hydantoinsäure weiter zu Glycin, Kohlensäure und Ammoniak zersetzt, so würden 2 Mol. Allantoin 2 Mol. CO_2 und 3 Mol. NH_3 geben, und bei der Zerlegung auch des Glykokolls würde noch 1 Mol. CO^2 hinzukommen. Diese vollständige Zersetzung erleidet nach Schöndorff das Allantoin beim Erhitzen mit alkalischer Chlorbaryumlösung auf 230^0; bei 150^0 entstehen (aus 2 Mol. Allantoin) 2 Mol. CO_2.

5. Allantoin reducirt bei anhaltendem Kochen Fehling'sche Lösung unter Abscheidung von Kupferoxydul.

6. Wie der Harnstoff giebt das Allantoin die Schiff'sche Furfurolreaction (§ 32. A. 7. a. S. 296), aber etwas weniger schnell und nicht so intensiv wie dieser (Schiff[1]).

7. Es giebt die Murexidprobe (§ 33. B. 5. i. S. 325) nicht.

8. Nach Malerbe[2]) entwickelt das Allantoin bei der Einwirkung von Hypobromit die Hälfte seines Stickstoffs gasförmig.

9. Allantoin giebt nach vorläufiger Behandlung mit Salzsäure bei der Einwirkung von salpetriger Säure 68,6—99,5 % seines Stickstoffs als Gas ab, allen Stickstoff erst nach sehr langer Einwirkung der Salzsäure (Kreusler[3]).

C. *Darstellung.* Aus Kälberharn. Derselbe wird im Wasserbad zum Syrup verdunstet und mehrere Tage in der Kälte stehen gelassen, wobei Allantoin und phosphorsaure Magnesia auskrystallisiren und sich gelatinöse harnsaure Magnesia ausscheidet. Man trennt durch Schlämmen die Krystalle von der Gallert, kocht sie mit Wasser unter Zusatz von etwas Thierkohle, wobei der grösste Theil des Phosphats ungelöst bleibt, filtrirt heiss, macht das Filtrat mit Salzsäure schwach sauer, wodurch das in Lösung gegangene Phosphat in Lösung erhalten wird, und lässt krystallisiren (Wöhler).

Künstlich erhält man das Allantoin durch Oxydation der Harnsäure in neutraler oder alkalischer Lösung (§ 33. B. 5. f. S. 322).

D. *Nachweis.* — 1. Das Allantoin ist zunächst aus dem Harn zu isoliren.

---

1) H. Schiff, Berichte d. chem. Gesellsch. **10**. 774. 1877.
2) P. Malerbe, Berichte d. chem. Gesellsch. **19**. Ref. 252.
3) U. Kreusler, Landwirthsch. Versuchsstationen **31**. 309. 1885.

a. Wenn man Harn oder einen alkoholischen Auszug desselben verdunstet hat, so kann das Allantoin auskrystallisiren und dann beim Lösen des Rückstands in Wasser als schwer löslicher Körper zurückbleiben. Natürlich gewährt dieses Verfahren keine Sicherheit und wäre zum Aufsuchen des Allantoins nicht zu empfehlen.

b. Sicher ist folgende von G. Meissner[1]) angegebene Methode:

Man fällt Harn mit Barytwasser aus, neutralisirt das Filtrat genau mit Schwefelsäure, filtrirt nochmals und dampft bis zur beginnenden Krystallisation ein. Die noch warme Flüssigkeit wird mit soviel Alkohol vermischt, dass ein sich gut abscheidender Niederschlag entsteht, die alkoholische Lösung abgegossen oder abfiltrirt, und mit Aether vollständig ausgefällt. Beide Niederschläge, namentlich der mit Aether erhaltene, können das Allantoin in allerdings noch nicht charakteristischen Krystallen neben anderen Substanzen enthalten. Die Niederschläge werden mit wenig kaltem Wasser oder mit heissem Weingeist extrahirt, wobei das Allantoin zurückbleibt. Beim Umkrystallisiren des Rückstands aus heissem Wasser erhält man es alsdann sofort in den schönsten Krystallen ganz rein.

c. Ein anderes, gleichfalls von G. Meissner[2]) herrührendes Verfahren ist folgendes:

Der Harn wird mit Baryumhydrat, der gelöste Baryt mit Schwefelsäure genau ausgefällt und das alkalische Filtrat nun so lange mit Quecksilberchlorid versetzt, als noch ein Niederschlag entsteht. Derselbe wird sofort abfiltrirt und die saure, viel überschüssiges Quecksilber enthaltende Flüssigkeit mit Kali- oder Natronlauge genau neutral gemacht, wobei aufs Neue ein Niederschlag auftritt. Man setzt dann abwechselnd Sublimat und Alkalihydrat hinzu, bis bei neutraler Reaction kein Niederschlag mehr entsteht (wobei man darauf zu achten hat, dass die Flüssigkeit nicht alkalisch wird: B. 2. b.). Beide Niederschläge können Allantoin (neben Harnsäure) enthalten. Sie werden gewaschen, in Wasser suspendirt, mit Schwefelwasserstoff zerlegt, die Flüssigkeit heiss filtrirt und zur Krystallisation verdampft.

d. Frerichs und Staedeler fällten den Harn mit basisch essigsaurem Blei und dampften das entbleite Filtrat stark ein, worauf das Allantoin in Körnern auskrystallisirte.

e. Pouchet fand es in der bei der Darstellung der Xanthinbasen bleibenden kupferhaltigen Mutterlauge neben dem Carnin.

2. Von einigen der erhaltenen, nöthigenfalls nochmals umkrystallisirten Krystalle bereitet man sich in der Wärme 10—15 cc Lösung und prüft wie folgt:

a. Ein Theil der Lösung wird mit salpetersaurem Silber versetzt, wobei sie klar bleibt, und dann sehr vorsichtig mit Ammoniak. Bei Gegenwart von Allantoin entsteht ein weisser glitzernder oder flockiger Niederschlag, der aus kleinen mikroskopischen Tröpfchen besteht (B. 2. a.).

Man verfährt am Besten so, dass man ein Tröpfchen Ammoniak an der Wand des Reagensglases herablaufen lässt; bei der auf diese Weise bewirkten allmählichen

---

1) G. Meissner, Zeitschr. f. rat. Med. [3]. **24.** 104. u. **31.** 297.

2) G. Meissner, Zeitschr. f. rat. Med. [3]. **31.** 304.

Mischung entsteht ein wolkiger Niederschlag, der anfangs beim Schütteln wieder verschwindet, aber bei weiterem Zusatz von Ammoniak an Massigkeit zunimmt. Ueberschreitet man das erforderliche Maass von Ammoniak, so geht der Niederschlag wieder in Lösung, tritt aber wieder auf, wenn man nun ebenso vorsichtig salpetersaures Silber zusetzt. Das Verfahren ist also ganz dasselbe wie beim Nachweis der arsenigen Säure durch salpetersaures Silber. Beim Neutralisiren des Ammoniaks mit salpetersaurem Silber mengt sich dem Niederschlag aber Silberoxyd bei und er erscheint grau.

b. Ein anderer Theil der Lösung wird tropfenweise mit salpetersaurem Quecksilberoxyd versetzt. Der anfangs entstehende weisse flockige Niederschlag verschwindet beim Umschütteln wieder, wenn er nicht schon zu gross ist, und wird auf Zusatz von mehr Reagens dauernd. Ein paar Tropfen Natronlauge lösen den voluminösen Niederschlag sofort, die Lösung trübt sich aber alsbald und wird grau.

c. Ein dritter Theil der Lösung wird mit etwas frisch bereiteter verdünnter Fehling'scher Lösung schwach blau gemacht und anhaltend gekocht. Bei Anwesenheit von Allantoin scheidet sich, manchmal erst beim Stehen der Flüssigkeit, rothes Kupferoxydul ab.

d. Einige Kryställchen werden mit ziemlich concentrirter Natron- oder Kalilauge gekocht, bis der entweichende Dampf befeuchtetes rothes Lackmuspapier stark bläut; dann wird die Flüssigkeit mit Essigsäure mässig übersättigt und mit einigen Tropfen Chlorcalciumlösung versetzt. Ein sofort eintretender feinpulveriger, in Essigsäure unlöslicher, in Salzsäure löslicher Niederschlag (von Calciumoxalat) weist auf die Gegenwart von Allantoin hin (B. 4.).

e. Man stellt mit einigen Kryställchen die Schiff'sche Furfurolreaction an.

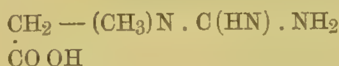
f. Das Ausbleiben der Murexidreaction schützt vor einer Verwechslung mit Harnsäure.

g. Zur weiteren Sicherung des Befundes kann man von einer grösseren Menge der Silberverbindung eine Silberbestimmung ausführen. Der Niederschlag wird mit Wasser silberfrei gewaschen, im Vacuum über Schwefelsäure getrocknet und geglüht; die reine Verbindung hinterlässt dabei nach der Rechnung 40,75 % Silber.

§ 37. Kreatin.



$C_4H_9N_3O_2$.



$CH_2 — (CH_3)N . C(HN) . NH_2$



$CO\,OH$

Methylguanidinoessigsäure, Methylguanidin-Hydantoinsäure.

A. *Vorkommen.* Nach Voit sowie nach Meissner findet sich im Harn der Säugethiere neben dem Kreatinin immer eine kleine Menge Kreatin, die im Verhältniss zum Kreatinin um so grösser ist, je mehr

Kreatinin der Harn enthält, am Grössten aber, wenn der Harn mit alkalischer Reaction secernirt wird. Die Gültigkeit dieser Angaben wird jedoch von K. B. Hofmann[1]) in Frage gestellt.

Da das Kreatinin ebenso leicht in Kreatin übergeht, wie umgekehrt das Kreatin in Kreatinin, so ist bei der Beurtheilung des Befundes immer auf die angewandte Methode sorgfältig Rücksicht zu nehmen.

B. *Eigenschaften.* 1. Das Kreatin krystallisirt mit 1 H_2O in farblosen, vollkommen durchsichtigen, stark glänzenden, dem monoklinischen System angehörigen Prismen.

Das Kreatin krystallisirt leicht in gut ausgebildeten Krystallen. Manche davon erscheinen in rechtwinkligen, mehr oder minder gestreckten Tafeln, andere wieder in Prismen, die mit einer schiefen oder je zwei Endflächen geschlossen sind; der Scheitel des Winkels, in welchem sich die Endflächen schneiden, liegt seitlich von der Mittellinie des Prismas. Noch andere Krystalle sind in charakteristischer Weise in der Mitte dicker als an den Enden. Nicht selten setzt sich mitten an die Seitenfläche eines grösseren Krystalls ein kleinerer unter spitzem Winkel an, was für das Kreatin gleichfalls charakteristisch ist. Häufig bildet das Kreatin schöne Krystalldrusen.

2. Es verliert schon über Schwefelsäure sein Krystallwasser zum Theil, vollständig bei 100^{0} (Volhard). Es reagirt neutral, besitzt einen bitteren Geschmack, löst sich in 75 Theilen kalten Wassers, in heissem jedoch viel leichter; die Lösung scheidet beim Erhalten das Kreatin wieder krystallinisch in der Form feiner glänzender Nadeln aus. In kaltem absoluten Alkohol ist es schwer löslich, 1 Theil verlangt 9410 Theile; Aether nimmt dagegen Nichts auf. Auf die Löslichkeit des Kreatins haben übrigens gewisse Harnbestandtheile and andere indifferente Körper einen wesentlichen Einfluss.

Während reines Kreatin in einer Mischung von 4 Vol. Alkohol und 1 Vol. Wasser kaum löslich ist, löst es sich nach Meissner[2]) in derselben noch in gewisser Menge bei gleichzeitiger Gegenwart von Harnstoff oder Kreatinin; auch einige organisch-saure Salze erhöhen seine Löslichkeit. Fällt man aus einem syrupdicken Harnauszug, wie man ihn durch Extrahiren von eingedampftem Harn mit Alkohol und Verdunsten dieser Lösung erhält, den Harnstoff mit Salpetersäure oder Oxalsäure, so pflegt auch das Kreatin plötzlich auszukrystallisiren; einen ebenso günstigen Einfluss auf die Abscheidung des Kreatins kann das Ausfällen des Kreatinins mit Chlorzink, nach meinen Erfahrungen auch das Sättigen des Kreatinins mit Essigsäure ausüben.

Auch in concentrirter Chlorzinklösung löst sich nach Neubauer das Kreatin in der Kälte leicht in ziemlich grosser Menge. Durch Sättigen seiner Lösung mit Ammonsulphat wird es nach Edmunds[3]) nicht gefällt.

3. Das Kreatin verbindet sich mit Säuren zu leicht löslichen Salzen, die krystallisirt erhalten werden können, wenn man die Lösung

---

1) K. B. Hofmann, Virchow's Archiv **48**. 358. 1869.
2) G. Meissner, Ztschr. f. rat. Med. [3] **24**. 103.
3) Edmunds, Journ. of Physiol. **17**. 452. 1895.

bei einer 30° nicht übersteigenden Temperatur eindampft (Dessaignes). Die Verbindungen des Kreatins mit Phosphormolybdänsäure (Kerner) oder Phosphorwolframsäure (Hofmeister) sind im Gegensatz zu denen des Kreatinins leicht löslich. Pikrinsaures Kreatin ist in Wasser leicht löslich.

Aber ein Kreatinkrystall überzieht sich nach Kossel[1]) in einer alkoholischen Pikrinsäurelösung langsam mit einer filzigen Auflagerung von pikrinsaurem Salz.

4. Das Kreatin geht mit Metalloxyden und mit Metallsalzen Verbindungen ein, von welchen einige krystallisiren.

a. Versetzt man eine Kreatinlösung mit wenig salpetersaurem Silber und dann tropfenweise mit Kali- oder Natronlauge, so entsteht ein weisser, im Ueberschuss der Lauge löslicher Niederschlag; diese alkalische Lösung verwandelt sich nach kurzer Zeit in eine durchsichtige Gallert, welche sich langsam in der Kälte, sogleich beim Erwärmen schwärzt. — Versetzt man eine abgekühlte kalihaltige Kreatinlösung mit einer gleichfalls kalten Sublimatlösung, bis ein gelber Niederschlag von Quecksilberoxyd auszufallen beginnt, so erhält man die Verbindung $C_4H_7HgN_3O_2$ (Engel[2]).

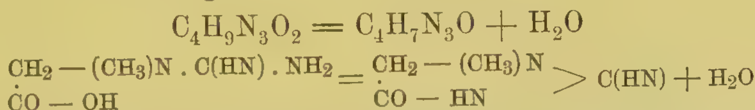
b. Reines Kreatin wird in verdünnter Lösung durch Chlorzink nicht gefällt. Aus concentrirter Lösung krystallisirt Kreatin-Chlorzink in harten Krystallen. Aehnliche Verbindungen liefert das Kreatin mit Chlorcadmium, Chlorkupfer und salpetersaurem Quecksilberoxyd (Neubauer).

c. Kreatin wird weder durch neutrales noch durch basisch essigsaures Blei gefällt. Mit Kupferoxydul giebt es keine unlösliche Verbindung (Krüger[3]).

5. Beim Schütteln von Kreatin mit Benzoylchlorid und Natronlauge vereinigt es sich nach v. Udránszky u. Baumann[4]) nur dann mit dem Benzoyl, wenn die Lösung mehr als 0,5 % Kreatin enthält.

6. Erwärmt man Kreatin mit einer Mineralsäure, so verwandelt es sich unter Wasserabgabe in Kreatinin:

$$C_4H_9N_3O_2 = C_4H_7N_3O + H_2O$$

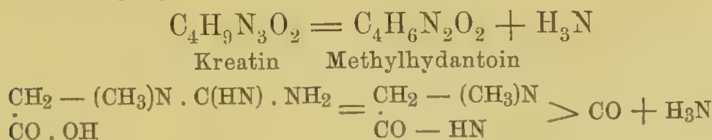


und beim Verdunsten der Lösung krystallisirt das entsprechende Kreatininsalz. Erhitzt man Kreatin mit Chlorzink, selbst in wenig concentrirter Lösung, zum Sieden, so fällt Kreatinin-Chlorzink aus (vergl. § 38. B. 4. e.)

7. Kocht man Kreatin längere Zeit mit Barymhydrat, so zerfällt es:

a. in Methylhydantoin und Ammoniak:

$$\underset{\text{Kreatin}}{C_4H_9N_3O_2} = \underset{\text{Methylhydantoin}}{C_4H_6N_2O_2} + H_3N$$



---

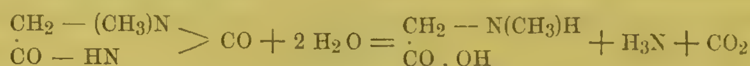
1) A. Kossel, in Behrens, Kossel u. Schiefferdecker, das Mikroskop und die Methoden der mikroskopischen Untersuchung 1. 284. 1889.

2) R. Engel, Comptes rendus 78. 1707. u. 80. 855.

3) M. Krüger, Ztschr. f. physiol. Ch. 18. 355. f. 1893.

4) L. v. Udránszky u. Baumann, Ber. d. chem. Gesellsch. 21. 2938. 1888.

und das Methylhydantoin kann sich dann weiter zu Sarkosin, Ammoniak und Kohlensäure zersetzen.

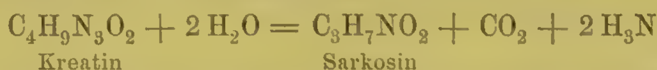


Die Umwandlung des Methylguanidinrestes im Kreatin in den Methylharnstoffrest erfolgt in derselben Weise, wie die Umwandlung des Guanidins selbst in Harnstoff durch Baryumhydrat.

b. Oder es wird direkt in Sarkosin und Harnstoff gespalten.

Man kann annehmen, dass sich dabei vom Kreatin die desmotrope Form des Harnstoffs HO . C(NH) . NH_2 abspaltet, welche sich in den gewöhnlichen Harnstoff H_2N . CO . NH_2 umlagert, oder dass das Hydroxyl, welches bei der Spaltung des Kreatins in Sarkosin und den Rest — C(NH) . NH_2 übrigbleibt, mit dem Guanidinrest direkt Harnstoff bildet.

Die Endprodukte dieser Zesetzung sind also Sarkosin und Harnstoff oder Kohlensäure und Ammoniak:



$$\underset{\text{Kreatin}}{C_4H_9N_3O_2} + 2\,H_2O = \underset{\text{Sarkosin}}{C_3H_7NO_2} + CO_2 + 2\,H_3N$$

Dementsprechend liefert das Kreatin bei starkem Erhitzen mit Baryumhydrat nach Salkowski sowie nach Schöndorff[1]) beim Erhitzen mit alkalischer Chlorbaryumlösung auf 150° auf 1 Mol. CO_2 2 Mol. H_3N.

8. Wird das Kreatin mit Phosphorsäure auf 150° erhitzt so zerfällt es nach Schöndorff[2]) wie beim Kochen mit Baryumhydrat in gleiche Mol. Ammoniak und Methylhydantoin, bei 230° giebt es nahezu allen Stickstoff als Ammoniak (und Methylamin) ab.

9. Es wird, wie das Kreatinin, leicht von oxydirenden Substanzen angegriffen.

a. Bleisuperoxyd und Schwefelsäure, sowie Quecksilberoxyd oxydiren es zu oxalsaurem Methylguanidin, $C_2H_2O_4 - H(CH_3)N . C(HN) . NH_2$

Bei anhaltender Digestion von Kreatin mit übermangansaurem Kali wird das Kreatin ohne Gasentwicklung unter Bildung von kohlensaurem Kali zersetzt (Liebig). — Wird es bei Gegenwart starker Kalilauge mit übermangansaurem Kali behandelt, so giebt es annähernd $^1/_3$ seines Stickstoffs als Ammoniak ab (Wanklyn u. Chapman[3]).

b. Durch Kupferoxyd-Ammoniak wird es nach Loew[4]) zu Oxalsäure (und wahrscheinlich Methylguanidin) oxydirt (vergl. Kreatinin § 38. B. 9. b).

c. Es reducirt bei anhaltendem Kochen Fehling'sche Flüssigkeit, ohne dass sich Kupferoxydul absetzt; auf reichlichen Zusatz von concentrirter Sodalösung scheidet sich dann aus der Flüssigkeit ein weisser flockiger Niederschlag aus (vergl. Kreatinin § 38. B. 9. c).

---

1) E. Salkowski, Berichte d. chem. Gesellsch. 9. 719. 1876; Ztschr. f. physiol. Chem. 4. 59. 1880. — B. Schöndorff, Pflüger's Archiv 62. 48. 1895.

2) Schöndorff, a. a. O.

3) Wanklyn u. Chapman, Jahresb. Chem. 1868. 295.

4) O. Loew, Journ. f. prakt. Chem. [2] 18. 298.

d. Eine Kreatinlösung verändert sich auf Zusatz von alkalischer Quecksilberoxydlösung zunächst nicht; bei gelindem Erwärmen tritt aber eine schön rothe, dann gelbe Trübung auf und endlich scheidet sich metallisches Quecksilber als grauer Niederschlag ab.

e. Bei der Einwirkung von unterbromigsaurem Natron giebt das Kreatin etwa $^2/_3$ seines Stickstoffs gasförmig ab (Hüfner, Esbach[1])

f. Nach Heinrich[2]) entwickelt es mit verdünnter rother Salpetersäure die Hälfte seines Stickstoffs.

g. Bei der Stickstoffbestimmung nach Kjedahl liefert es allen Stickstoff (Schöndorff).

C. *Darstellung.* Ueber die Gewinnung von Kreatin aus Harn überhaupt findet sich das Nöthige unter Kreatinin, C., angeführt.

Die Methoden für die Darstellung im Harn bereits präformirten Kreatins laufen darauf hinaus, dass man den Harn nach Entfernung der Phosphorsäure zur Krystallisation bringt.

a. G. Meissner[3]) fällt den Harn mit Barytwasser aus, den in Lösung gegangenen Baryt mit der gerade genügenden Menge Schwefelsäure und neutralisirt die immer noch alkalische Flüssigkeit mit Salzsäure, dampft alsdann zum Syrup ein und vermischt diesen mit etwa so viel absolutem Alkohol, als das ursprüngliche Harnvolumen betrug. Nach dem Erkalten filtrirt man die alkoholische Lösung ab und zieht den in absolutem Alkohol unlöslich gewesenen Antheil mit wenig heissem Wasser aus, wobei wenig braune Substanz zurückbleibt. Diese Lösung enthält neben harnsaurem Alkali (und bernsteinsaurem Alkali) das Kreatin. — Da auch der alkoholische Auszug noch viel Kreatin enthalten kann, dampft man diesen bis zur Syrupconsistenz ein, fällt den Harnstoff mit Salpetersäure oder Oxalsäure aus (B. 2) und trennt das Harnstoffsalz durch Lösen in wenig Wasser vom Kreatin.

b. Ein anderes, von Meissner[4]) erprobtes Verfahren ist folgendes: Der Harn wird mit Barytwasser ausgefällt, das Filtrat genau mit Schwefelsäure neutralisirt und die abermals abfiltrirte Flüssigkeit unter sorgfältiger Erhaltung der neutralen Reaction, bis zur beginnenden Krystallisation verdampft. Der noch warme Rückstand wird dann mit so viel Alkohol vermischt, dass ein sich gut abscheidender Niederschlag entsteht, die rückständige Flüssigkeit abfiltrirt oder abgegossen und portionsweise mit Aether versetzt, bis sich keine Trübung mehr bildet. Das Kreatin krystallisirt aus diesen einzelnen Niederschlägen, oder aus den über denselben stehenden Lösungen aus, wird mechanisch oder durch Abspülen von den mit ausgefallenen Substanzen getrennt und aus Wasser umkrystallisirt. Das Kreatin ist vollständig gefällt, wenn Aether keinen Niederschlag mehr giebt (von 0,15 g Kreatin, die einem kreatinfreien Harn zugesetzt waren, wurde 0,135 g wieder gefunden); das Kreatinin bleibt in Lösung (vgl. § 36. D. 1. b. S. 380).

c. Ueber das von C. Voit angewandte Verfahren macht J. Zantl[5]) folgende Angaben. Harn wird mit basisch essigsaurem Blei ausgefällt, das überschüssige

1) Hüfner, Journ. f. prakt. Chem. [2] **3**. 21. — Esbach, Gaz. méd. de Paris 24. 1873.

2) Heinrich, Sachsse's Phytochem. Untersuchungen 1880. 107.

3) G. Meissner, Ztschr. f. rat. Med. [3] **24**. 97 u. 103. — Meissner und Shepard, Untersuchungen über das Entstehen der Hippursäure im thierischen Organismus. Hannover 1866. 112 u. 115.

4) G. Meissner, a. a. O. [3] **31**. 297.

5) Josef Zantl, Ueber die Ausscheidung von Kreatinin und Kreatin u. s. w. München 1868, p. 9.

Blei mit Schwefelwasserstoff entfernt, das Filtrat bis zur beginnenden Krystallisation eingedampft und dann an einen kalten Ort gestellt, worauf sich Kreatin, Harnstoff und eine geringe Menge von Salzen ausscheiden. Von diesen wird die Mutterlauge abgegossen, der krystallinische Rückstand in absolutem Alkohol suspendirt, auf ein Filter gebracht und mit absolutem Alkohol ausgewaschen. Die auf dem Filter gebliebene Substanz wird dann in heissem Wasser gelöst, die Lösung eingedampft, der Rückstand nochmals in möglichst wenig heissem Wasser zur Lösung gebracht und diese dann der Krystallisation überlassen.

K. B. Hofmann ist in indirecter Weise zu der Ueberzeugung gelangt, dass der Harn kein Kreatin neben dem Kreatinin enthält; er behandelte Harn mit Salzsäure, wobei das Kreatin in Kreatinin übergehen musste, und fand, dass in solchem Harn der Gehalt an Kreatinin nicht zugenommen hatte; der Versuch lässt den Einwand zu, dass das Kreatin, wenn solches im Harn enthalten war, beim Eindampfen des Harns in Kreatinin verwandelt worden sein konnte, und dass sich das Kreatinin nicht genau genug bestimmen lässt.

D. *Nachweis.* Die Eigenschaften, an welchen man das Kreatin als solches erkennt, sind theils positiver, theils negativer Art; die Methoden haben vorzüglich einer Verwechslung mit dem Kreatinin vorzubeugen.

a. Die Krystallform des Kreatins ist für seine Erkennung nicht absolut verlässlich, wenn nicht ganz charakteristische Formen zu Gesicht kommen; gut ausgebildete Kreatinintafeln sind nur schwer von den rechtwinkligen Tafeln des Kreatins zu unterscheiden.

b. Das Kreatin enthält 12,08 % Krystallwasser, welches bei 100° leicht vollständig entweicht, während das Kreatinin wasserfrei ist. Eine Krystallwasserbestimmung würde demnach ohne Substanzverlust ein werthvolles Merkmal abgeben.

c. Kreatin giebt in der Kälte keinen Niederschlag mit Chlorzink.

Man versetzt eine verdünnte Lösung der Substanz mit einigen Tropfen wässriger oder alkoholischer Chlorzinklösung und darauf mit einigen Tropfen essigsaurem Natron. Eine Kreatinlösung bleibt dabei klar.

d. In Berührung mit alkoholischer Pikrinsäure verwandelt es sich (unter dem Mikroskop) langsam in sein Pikrat (C. 3.).

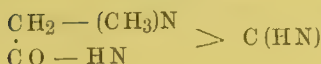
e. Kreatin giebt die Weyl'sche Kreatininreaction nicht (§ 38. B. 12. c).

f. Dagegen reducirt auch das Kreatin Fehling'sche Lösung bei anhaltendem Kochen, und die entfärbte Flüssigkeit giebt auf reichlichen Zusatz von gesättigter Sodalösung beim Erkalten einen dicken weissen Niederschlag (§ 38. B. 9. c).

g. Kreatin wird beim Erwärmen mit Mineralsäuren in Kreatinin verwandelt. Man löst die Krystalle, wenn die Probe c. negativ ausgefallen ist, in wenig verdünnter Salzsäure, dampft auf ein kleines Volumen ein, verdünnt mit Wasser, setzt reichlich essigsaures Natron und darauf einige Tropfen Chlorzinklösung zu. Bestanden die Krystalle aus Kreatin, so entsteht jetzt ein krystallinischer Niederschlag von Kreatinin-Chlorzink (§ 38. B. 4. e).

§ 38. Kreatinin.





Methylguanidin-Hydantoin.

Das Kreatinin wurde zuerst von Liebig in dem krystallinischen Niederschlag gefunden, den Heintz und später Pettenkofer aus eingedicktem Harn mit Chlorzinklösung erhielten. Liebig fand in dieser Chlorzinkverbindung Kreatinin neben Kreatin und kam so zu der Ansicht, beide Körper seien ursprünglich in diesem Niederschlag enthalten. Allein Heintz lieferte später den Beweis, dass der Niederschlag kein Kreatin enthält, sondern dieses sich erst bei der Zersetzung der Chlorzinkverbindung des Kreatinins aus letzterem durch Aufnahme von Wasser bildet, eine Thatsache, die auch von Liebig und Dessaignes bestätigt worden ist.

Die von Stillingfleet Johnson gemachte Angabe, dass das natürliche im Harn vorkommende Kreatinin von dem durch Säuren aus Kreatin dargestellten (§. 37. B. 6) verschieden sei, hat sich als irrig erwiesen. Toppelius und Pommerehne[1]) haben das Kreatinin aus Harn, das aus Fleisch, synthetisches (aus Sarkosin und Cyanamid) und das durch Säuren aus Kreatin dargestellte verglichen und keinerlei Unterschied gefunden in der Krystallform, der Löslichkeit (in Wasser und in Alkohol), dem Reductionsvermögen und in den Eigenschaften der Chlorhydrate, der Gold- und Platinchloridsalze und der Pikrate.

A. *Vorkommen.* Nach Neubauer's Bestimmungen wird von einem gesunden Manne bei guter gemischter Kost 0,6—1,3 g Kreatinin mit einer durchschnittlichen Harnmenge von 1500—1600 cc in 24 Stunden entleert; St. Johnson fand 1,7—2,1 g in der Tagesmenge. Die Menge des im Harn erscheinenden Kreatinins ist hauptsächlich abhängig von der Menge der im Körper zersetzten Muskelsubstanz, und die Ausscheidung demnach vermehrt nach reichlicher Fleischkost, in acuten Krankheiten u. s. w.; eine Verminderung tritt ein bei mangelhafter Ernährung, bei Schwächezuständen, in der Reconvalescenz von acuten Krankheiten u. s. w.

Auch nach Fütterung mit Fleisch, das durch Auslaugen mit Wasser vollständig vom Kreatin befreit war, schied ein Hund nach Rubner noch Kreatinin aus (0,105 g in der Tagesmenge Harn gegen 0,220 g im Hunger). — Nach Baldi war in dem Harn eines Mannes (Succi), welcher 30 Tage keine Nahrung zu sich nahm, bis zum 17. Tage Kreatinin in wägbaren Mengen vorhanden, von da ab nur in Spuren. — Moitessier giebt an, dass nach anstrengenden Märschen die Kreatininmenge um $^1/_8$ gesteigert sei, und Ackermann[2]), dass ein Arbeiter an den Ruhetagen $^1/_6$—$^1/_3$ weniger ausscheide, als an den Arbeitstagen.

Ausser im Harn des Menschen findet sich Kreatinin in dem des Pferdes und des Kalbes (Socoloff), der Kuh (Dessaignes), des Hundes (Liebig), des Schweines (Pecile), des Kaninchens (H. Köhler), dagegen nicht im Harn der Vögel (Meissner) und in dem des Hundshays (Herter).

---

[1]) G. Stillingfleet Johnson, Proceedings of the London Roy. Society, **42**. 865. 1887; **43**. 493. Chem. News **55**. 304. 1887. — M. Toppelius und H. Pommerehne, Arch. d. Pharm. **234**. 380; Chem. Centralbl. 1896. **2**. 349.

[2]) Rubner, Ztschr. f. Biol. **23**. 279. 1885. — D. Baldi, Sperimentale, März 1889; Jahresb. f. Thierch. 1889. 190. — J. Moitessier, Comptes rendus de la Soc. de Biol. **43**. 573. 1891. — E. Ackermann, daselbst **46**. 659. 1894.

B. *Eigenschaften.* 1. Das Kreatinin krystallisirt wasserfrei in farblosen glänzenden Prismen (anscheinend rechtwinkligen Tafeln mit abgestutzten Ecken) des monoklinischen Systems; die auf der Seite liegenden erscheinen in Wetzsteinformen. Beginnt sich nach Kemmerich[1]) bei 235° zu zersetzen, ohne zu schmelzen.

Nach Stillingfleet Johnson krystallisirt das Kreatinin auch wasserhaltig. Kreatinin aus Harn, welches aus dem Chlorid durch Bleihydrat dargestellt wurde, krystallisirt aus einer kalt bereiteten Lösung bei freiwilligem Verdunsten in grossen nadelförmigen Krystallen mit $2^1/_2$ H_2O, welche leicht verwittern. Wird die Lösung bei 60° eingedampft, so krystallisiren wasserfreie Tafeln aus, deren Lösung beim Verdunsten in der Kälte wieder wasserhaltige Krystalle liefert. Stellt man dagegen die Lösung durch Kochen dar, so erhält man wasserfreie Krystalle, deren Lösung beim Verdunsten in der Kälte keine wasserhaltigen, sondern wasserfreie Krystalle absetzt.

2. Das Kreatinin löst sich nach Liebig bei 16° in 11,5, nach Toppelius und Pommerehne in 10—11 Theilen Wasser, leichter noch in heissem, nach Liebig bei 16° in 102, nach Toppelius und Pommerehne in 625 Theilen absolutem Alkohol, in heissem Alkohol ist es jedoch in solcher Menge löslich, dass es beim Erkalten wieder auskrystallisirt (Liebig). Aether nimmt nur sehr geringe Mengen auf. Seine Lösungen reagiren nur schwach alkalisch oder neutral (Salkowski[2]), stark alkalisches Kreatinin hinterlässt stark alkalische Asche. Als nicht flüchtige Basis treibt es aus Ammonsalzen Ammoniak aus.

Aus seiner wässrigen Lösung wird es durch Sättigen derselben weder mit Chlorammon (Hopkins), noch mit Ammonsulphat (Edmunds[3]) gefällt.

3. Das Kreatinin bildet mit Säuren Salze, von denen die mit den gewöhnlichen Mineralsäuren gut krystallisiren und leicht löslich sind. Die Salze reagiren gegen Lackmus oder Rosolsäure sauer (Salkowski).

Das schwefelsaure Kreatinin, $(C_4H_7N_3O)_2$, H_2SO_4, bildet concentrisch gruppirte, durchsichtige quadratische Tafeln. — Das salzsaure Kreatinin, $C_4H_7N_3O$, HCl, krystallisirt in durchsichtigen Prismen und breiten Platten; nach Toppelius u. Pommerehne aus concentrirter Salzsäure wasserfrei, aus Wasser bei freiwilligem Verdunsten wasserhaltig. — Das Chloroplatinat, aus alkoholischer Lösung des Chlorids mit alkoholischer Platinchloridlösung dargestellt, $(C_4H_7N_3O)_2$, H_2PtCl_6, besteht aus morgenrothen durchsichtigen Säulen, welche sich leicht in Wasser, schwerer in Alkohol lösen; das aus Wasser umkrystallisirte oder aus wässriger Lösung dargestellte Salz enthält nach Johnson 2 H_2O. Das wasserhaltige Salz bildet nach Toppelius u. Pommerehne leicht übersättigte Lösungen. Es schmilzt bei 210° (T. u. P.). — Das wohl ausgebildete Chloraurat $C_4H_7N_3O$, $HAuCl_4$ schmilzt annähernd bei 162° (T. u. P.) — Cyanursaures Kreatinin wird durch Lösen der Säure in einer heissen verdünnten

---

1) Kemmerich, Ztschr. f. physiol. Ch. **16**. 411. 1893.

2) E. Salkowski, Ztschr. f. physiol. Ch. **4**. 133; **12**. 211.

3) F. G. Hopkins, Journ. of Pathol. and Bacteriol. 1893. 452. — A. Edmunds, Journ. of Physiol. **17**. 451. 1895.

Kreatininlösung erhalten und bildet farblose, zu Büscheln gruppirte Nadeln, die sich nicht ohne Zersetzung umkrystallisiren lassen (Jaffé).

Sehr schwer lösliche Salze bildet das Kreatinin mit der Phosphormolybdänsäure, der Phosphorwolframsäure und der Pikrinsäure.

a. Phosphormolybdänsäure erzeugt in wässrigen, mit verdünnter Salpetersäure angesäuerten Lösungen von reinem Kreatinin einen gelben krystallinischen Niederschlag, der bei 1000facher Verdünnung sogleich, bei 5—10 000 facher aber erst nach längerem Stehen zum Vorschein kommt. In einem grossen Ueberschuss von heisser Salpetersäure löst sich die Verbindung, fällt aber beim Erkalten wieder in schönen rhombischen Prismen mit zweiflächiger Zuspitzung heraus (Kerner). Der Niederschlag löst sich auch in einem Ueberschuss der salpetersäurehaltigen Lösung der Phosphormolybdänsäure (Kossel). — Auch die Phosphorwolframsäure giebt nach F. Hofmeister mit Kreatininlösungen, welche mit einer Mineralsäure (nicht mit Essigsäure, selbst, nach Baumeister[1]), nicht mit 0,2 Vol. Eisessig) angesäuert sind, bei denselben Verdünnungen wie mit der Phosphormolybdänsäure noch Niederschläge von feinen Nadeln, aber die Niederschläge entstehen viel langsamer, der aus der Lösung von 1 : 12 000 erst in 24 Stunden.

b. Pikrinsaures Kreatinin, $C_4H_7N_3O . C_6H_2(NO_2)_3OH$. Versetzt man eine selbst verdünnte Kreatininlösung mit wässriger Pikrinsäurelösung, so erstarrt die Flüssigkeit nach Jaffé[2]) sofort zu einem Krystallbrei, aus welchem man durch Umkrystallisiren aus heissem Wasser lange sehr dünne hellgelbe seidenglänzende Nadeln erhält. Die Verbindung verpufft beim Erhitzen. Sie schmilzt nach Toppelius u. Pommerehne scharf bei 212—213°.

c. Bei Gegenwart von Kalisalzen fällt aus einer Kreatininlösung durch Pikrinsäure nach Jaffé[3]) fast augenblicklich ein dem Kreatininpikrat sehr ähnliches, vielleicht noch etwas schwerer lösliches Doppelsalz von pikrinsaurem Kreatinin mit pikrinsaurem Kali $C_4H_7N_3O . C_6H_2(NO_2)_3OH$, $C_6H_2(NO_2)_3OK$. Es bildet ein Haufwerk langer gelber Nadeln, oder, bei gestörter Krystallisation, mikroskopische Büschel und Sterne. Von dem Salz lösen sich bei 19—20° 0,18 g in 100 cc Wasser und bei 15—16° 0,113 g in 6 fach verdünntem Alkohol; in kaltem starken Alkohol ist das Salz schwer, in heissem etwas reichlicher löslich, in Aether fast unlöslich. In trocknem Zustand kann das Salz auf 160° erhitzt werden, ohne sich zu verändern, bei schnellem Erhitzen explodirt es. — Kreatininkrystalle verwandeln sich nach Kossel[1]) in Berührung mit alkoholischer Pikrinsäure in die gelben Nadeln des Pikrats.

d. Mit Platinchlorid bildet Kreatinin $(C_4H_7N_3O)_2H_2PtCl_6$, orangegelbe, in Wasser leicht, in Alkohol schwerer lösliche Krystalle (Liebig). — Das Goldsalz $C_4H_7N_3O, HAuCl_4$ ist krystallinisch, in kaltem Wasser schwer, in heissem Wasser und in Alkohol leicht löslich (Hoppe-Seyler). Festes Kreatinin löst sich in Goldchloridlösung zunächst unter Bildung gelber öliger Tropfen, welche darauf krystallinisch erstarren (Kossel).

e. Die unter a und b genannten Säuren sind Alkaloidreagentien; mit einem anderen solchen, dem Jod-Jodkalium, giebt das Kreatinin nach Kerner[4]) keinen Niederschlag.

---

1) G. Kerner, Pflüger's Archiv **2**. 220. — A. Kossel, in Behrens, Kossel u. Schiefferdecker, das Mikroskop und die Methoden der mikroskopischen Untersuchung **1**. 285. 1889. — F. Hofmeister, Ztschr. f. physiol. Ch. **5**. 67. — Baumeister, Ztschr. f. physiol. Ch. **15**. 313.

2) M. Jaffé, Ztschr. f. physiol. Ch. **10**. 398. 1886.

3) Jaffé, a. a. O. 392.

4) Kerner, a. a. O. 216.

4. Das Kreatinin vereinigt sich auch, ähnlich wie der Harnstoff, mit Salzen schwerer Metalle zu krystallisirenden Verbindungen; von diesen sind folgende von analytischer Bedeutung.

a. Quecksilberchlorid giebt mit Kreatininlösung einen käsigen Niederschlag, welcher sich in ein Haufwerk von feinen farblosen Nadeln verwandelt (Liebig); der Niederschlag entsteht nach F. Hofmeister nur noch bei einer Verdünnung von weniger als 1 : 2000.

b. Aus einer verdünnten Kreatininlösung (Harn) scheiden sich, wenn man sie zuerst mit essigsaurem Natron und dann mit Quecksilberchlorid versetzt, nach einiger Zeit glasglänzende wasserklare Kugeln von $4 (C_4H_7N_3O \cdot HCl \cdot HgO) 3 HgCl_2$ ab. Die Verbindung löst sich leicht in Salzsäure, nicht in Essigsäure. In feuchtem Zustand zersetzt sie sich bei 100° (St. Johnson[1]).

c. Kreatinin-Mercurinitrat, $(C_4H_7N_3O)_2, Hg(NO_3)_2, HgO$. Eine Lösung von salpetersaurem Quecksilberoxyd bewirkt nach Neubauer[2]) in verdünnten Lösungen von Kreatinin keinen Niederschlag, setzt man aber der Mischung tropfenweise eine Lösung von kohlensaurem Natron bis zur eben bleibenden Trübung zu, so krystallisirt die Verbindung bald in mikroskopischen Krystallen heraus. In concentrirten Lösungen entsteht der Niederschlag sehr bald und wenn keine freie Salpetersäure zugegen, auch ohne Zusatz von Soda.

d. Versetzt man eine nicht zu verdünnte Kreatininlösung mit einer concentrirten Lösung von Silbernitrat, so erstarrt sie zu einem Netz von Krystallnadeln; die Verbindung, $C_4H_7N_3O \cdot AgNO_3$, löst sich leicht in heissem Wasser.

e. Kreatinin-Chlorzink, $(C_4H_7N_3O)_2 \cdot ZnCl_2$. Setzt man zu einer Lösung von Kreatinin eine concentrirte neutrale Auflösung von Zinkchlorid, so entsteht sogleich ein krystallinischer Niederschlag von Kreatinin-Chlorzink. Bei sehr langsamer Bildung sind die Krystalle deutlich prismatisch, bei schneller aber sieht man unter dem Mikroskop nur feine Nadeln, die concentrisch gruppirt entweder vollständige Rosetten bilden (Taf. I, Fig. 4, linke Seite), oder Büschel, die sich kreuzen oder wovon je zwei mit den kurzen Stielen so an einander gelagert sind, dass sie in einander übergehenden Pinseln gleichen. In kaltem Wasser ist das Kreatinin-Chlorzink schwer löslich, leichter in heissem Wasser, fast unlöslich dagegen in Alkohol; es löst sich in Mineralsäuren und in Alkalihydraten; auch in neutraler Chlorzinklösung ist es nicht völlig unlöslich.

Daher scheidet sich aus Kreatininlösungen, welche zugleich eine Mineralsäure enthalten, auf Zusatz von Chlorzink, oder aus einer reinen Kreatininlösung auf Zusatz einer säurehaltigen Chlorzinklösung kein Kreatinin-Chlorzink ab. Der Niederschlag kommt aber in diesen Fällen noch zum Vorschein, wenn man nachträglich eine Lösung von essigsaurem Natron in genügender Menge hinzufügt.

Der Niederschlag, welchen rohes, aus Harn dargestelltes Kreatinin mit Chlorzink giebt, besteht nicht blos aus der reinen Verbindung; er enthält von ihr nur 90—95 % (Neubauer, C. Voit).

---

1) G. Stillingfleet Johnson, a. a. O.
2) Neubauer, Ann. d. Ch. u. Pharm. **119**. 43. 1861.

Scheidet man aus wässrigem Harnextract das Kreatinin mit Chlorzink ab, so erhält man die Verbindung meistens in braunen, warzenförmigen Massen, an denen man selbst unter dem Mikroskop kaum eine krystallinische Structur wahrnehmen kann; nur zuweilen erhält man auch hier deutlichere Krystalldrusen, feine Nadeln, die zu besen- und sternförmigen Massen vereinigt sind. Aus alkoholischem Harnextract jedoch bekommt man das Kreatinin-Chlorzink beim Fällen mit einer gleichfalls alkoholischen Chlorzinklösung immer als schwach gelbliches Pulver, welches unter dem Mikroskop fast nur gelblich durchscheinende scharf conturirte Kugeln von verschiedener Grösse zeigt, an welchen bei starker Vergrösserung (400) eine Streifung mit Schärfe wahrzunehmen ist. Löst man etwas von diesem Pulver in heissem Wasser, so lassen sich leicht regelmässige Formen unter dem Mikroskop erzeugen.

Auch mit Chlorcadmium ist eine dem Kreatinin-Chlorzink ähnliche, aber leichter lösliche Verbindung dargestellt worden.

Das salzsaure Kreatinin-Chlorzink $(C_4H_7N_3O, HCl)_2, ZnCl_2$ krystallisirt aus einer Mischung der drei Bestandtheile erst dann aus, wenn die Lösung zum Syrup eingedunstet ist.

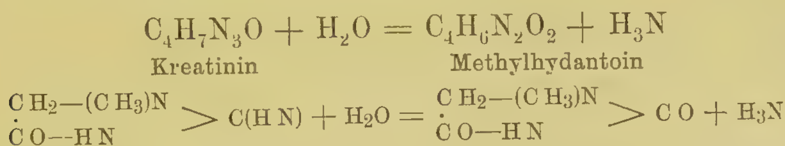
5. Aus wässriger Lösung wie aus Harn wird es nach Colls vollständig gefällt durch Ammoniak und Bleiacetat, dagegen nach Albanese nicht. — Mit Kupferoxydul in saurer Lösung giebt es nach Krüger[1]) keine unlösliche Verbindung (Vgl. B. 9. c).

6. Kreatinin liefert beim Schütteln mit Benzoylchlorid und Natronlauge nach v. Udránszky und Baumann nur dann eine Benzoylverbindung, wenn die Lösung mehr als 0,5% enthält und die Mischung sich merklich erwärmt; nach Lehmann[2]) giebt eine 5proc. Kreatininlösung dabei auch nur einen geringen Niederschlag.

7. In alkalischer Lösung (Ammoniak, Calciumhydrat u. s. w.) geht das Kreatinin schon in der Kälte (bei wochenlangem Stehen) in Kreatin über, $C_4H_7N_3O + H_2O = C_4H_9N_3O_2$ (Liebig, Dessaignes[3]); durch Wärme wird diese Umwandlung begünstigt. Auch bei monatelanger Berührung mit Wasser allein (Dessaignes) oder durch anhaltendes Kochen seiner wässrigen Lösung wird das Kreatinin zu Kreatin. Die Gegenwart von Neutralsalzen beeinträchtigt die Umwandlung nicht.

8. Beim Kochen von Kreatinin mit Baryumhydrat zerfällt das Kreatinin im Ammoniak und Methylhydantoin:

$$\underset{\text{Kreatinin}}{C_4H_7N_3O} + H_2O = \underset{\text{Methylhydantoin}}{C_4H_6N_2O_2} + H_3N$$



$$\begin{matrix} CH_2-(CH_3)N \\ \vdots \\ CO-HN \end{matrix} > C(HN) + H_2O = \begin{matrix} CH_2-(CH_3)N \\ \vdots \\ CO-HN \end{matrix} > CO + H_3N$$

unter gleichzeitiger Bildung einer syrupösen Säure.

---

1) P. C. Colls, Journ. of Physiol. **20.** 109. 1896. — M. Albanese, Arch. f. exper. Pathol. **35.** 453. 1895. — M. Krüger, Ztschr. f. physiol. Ch. **18.** 355. f. 1893.

2) L. v. Udránszky u. Baumann, Berichte d. chem. Gesellsch. **21.** 2938. — V. Lehmann, Ztschr. f. physiol. Ch. **17.** 409. 1892.

3) V. Dessaignes, Journ. de pharm. et de chimie [3] **32.** 41. 1857.

Bei $^1/_2$stündigem Erhitzen mit Wasser allein auf 180⁰ liefert das Kreatinin wie der Harnstoff nach Cazeneuve und Hugounenq[1]) kohlensaures Ammoniak. Das Kreatinin verhält sich nach Schöndorff[2]) wie das Kreatin gegen alkalische Chlorbaryumlösung (§. 37. B. 7. b), Phosphorsäure (B. 8) und Schwefelsäure (B. 9. g) beim Erhitzen.

9. Das Kreatinin wird leicht oxydirt.

a. Durch die Einwirkung von Quecksilberoxyd, von übermangansaurem Kali oder von Bleisuperoxyd und Schwefelsäure wird es in oxalsaures Methyluramin (Methylguanidin) übergeführt:



$$C_4H_7N_3O + O_2 + H_2O = C_2H_2O_4 - H(CH_3)N . C(HN) . NH_2.$$

Eine alkalische Quecksilberoxydlösung (Jodquecksilber-Kalium in Kalilauge) färbt sich mit Kreatininlösung schon in der Kälte sogleich gelb, dann braun und endlich unter Abscheidung von metallischem Quecksilber grau.

b. Wie das Kreatin wird auch das Kreatinin von Kupferoxyd-Ammoniak unter Bildung von Oxalsäure (und wahrscheinlich Methylguanidin) oxydirt.

c. Eine mit Hülfe von Weinsäure dargestellte, überschüssiges Natron oder Kali enthaltende Kupferoxydlösung (Fehling'sche Lösung) wird bei anhaltendem Kochen mit Kreatinin unter Entwickelung ammoniakalischer Dämpfe entfärbt (das Kupferoxyd reducirt), ohne dass sich Kupferoxydul absetzt.

Nach Worm-Müller[3]) erfolgt die Reduction schon bei 60—70⁰, die Reduction ist aber erst bei 90—100⁰ vollständig; bei 100⁰ beginnt die Entfärbung der Kupferlösung erst in 1—2 Minuten und erreicht in 3—5 Minuten ihr Maximum. 1 Mol. Kreatinin scheint selbst beim Kochen nicht mehr als 0,75 Mol. Kupferoxyd zu reduciren, aber die Flüssigkeit kann mehr Kupferoxydul in Lösung erhalten, als bei der Reaction entsteht. Nur bei langem Erhitzen des Kreatinins mit überschüssiger Kupferlösung auf 90—100⁰ scheidet sich etwas Kupferoxydul ab.

Nach Johnson reduciren 4 Mol. Kreatinin Fehling'sche Flüssigkeit so stark wie 2 Mol. Traubenzucker. Eine ammoniakalische Fehling'sche Lösung wird nach Moritz[4]) durch 93,4 Theile Kreatinin so stark reducirt wie durch 100 Theile Traubenzucker.

Das bei der Reaction gebildete Kupferoxydul lässt sich nach Maschke[5]) durch Sättigen der Flüssigkeit mit kohlensaurem Natron noch abscheiden.

Sättigt man nach O. Maschke eine verdünnte wässrige Kreatininlösung bei gewöhnlicher Temperatur mit krystallisirter Soda (oder besser, löst man in einer kalt gesättigten Sodalösung ein wenig Kreatinin auf) und fügt der Lösung einige Tropfen Fehling'scher Flüssigkeit hinzu, so scheidet sich schon in der Kälte, schneller noch nach dem Erwärmen auf 50—60⁰ beim Erkalten oder Abkühlen ein weisser amorpher flockiger Niederschlag ab, den Maschke für Kupferoxydul-Kreatinin (vielleicht $[C_4H_7N_3O]_2 . Cu_2O$) hält. — Das Kupferoxyd wird in diesem Falle durch das Kreatinin zu Oxydul reducirt. Reichlicher fällt der Niederschlag

---

1) P. Cazeneuve u. Hugounenq, Bull. de la Soc. chim. [2] **48**. 85. 1887.
2) B. Schöndorff, Pflüger's Archiv **62**. 45. 1895.
3) Worm-Müller, Pflüger's Archiv **27**, 59. 1882.
4) F. Moritz, Arch. f. klin. Med. **46**. 242. 1890.
5) O. Maschke, Ztschr. f. anal. Ch. **17**. 134. 1878.

aus, wenn man die Reduction des Kupferoxyds in der Art durch Traubenzucker bewerkstelligt, dass nicht mehr Oxydul entsteht, als durch das Kreatinin gebunden werden kann. — Der Niederschlag löst sich in Wasser und die Lösungen färben sich unter der Einwirkung der Luft wieder blau; aber er löst sich schwer in kalt gesättigten Salzlösungen. Man erhält daher einen ganz gleichen Niederschlag, wenn man die mit Kreatinin allein reducirte Fehling'sche Flüssigkeit reichlich mit kalt gesättigter Sodalösung versetzt und abkühlt. — In 100 cc mit Soda gesättigter Kreatininlösung entsteht noch eine schwache Trübung, wenn die Lösung auch nur 0,01 g Kreatinin enthält. — Kreatin giebt diese Reaction in der Kälte nicht, aber beim Kochen.

d. Die Farbenreaction, welche das Kreatinin mit alkalischer Pikrinsäurelösung giebt (B. 12. a), beruht auf einer Reduction der Pikrinsäure $C_6H_2(NO_2)_3 . OH$ zu Pikraminsäure $C_6H_2(NO_2)_2 . NH_2 . OH$.

e. Durch Kreatinin in alkalischer Lösung wird die Orthonitrophenylpropiolsäure nicht zu Indigo reducirt (Heckenhayn). Ebenso wenig werden Wolframsäure (Maschke) oder Phosphormolybdänsäure (Offer[1]) in alkalischer Lösung durch Kreatinin reducirt (blau gefärbt).

10. Das Kreatinin giebt nach Falck[2]) bei der Behandlung mit Bromlauge 37,4 % seines Stickstoffs gasförmig ab.

11. In faulem Harn lässt sich das Kreatinin wochenlang mittelst der Weyl'schen Reaction (B. 12. c) nachweisen (Colasanti, Salkowski), doch versagt nach Salkowski und Taniguti diese Reaction zuletzt. Halenke[3]) hat durch quantitative Bestimmungen eine erhebliche Abnahme des Kreatinins (und Kreatins) bei der Harnfäulniss nachgewiesen.

12. Das Kreatinin giebt ferner folgende Farbenreactionen:

a. Fügt man nach Jaffé[4]) einer Kreatininlösung etwas wässrige Pikrinsäurelösung und einige Tropfen verdünnte Kali- oder Natronlauge hinzu, so färbt sie sich sofort, und zwar schon in der Kälte, intensiv roth. Noch bei einer Verdünnung von 1 : 5000 nimmt das Kreatinin einen röthlichen Farbenton an.

Die Intensität der Färbung, die je nach der Concentration der Lösung von rothorange bis dunkelblutroth geht, nimmt in einigen Minuten noch erheblich zu und bleibt stundenlang unverändert; nur wenn die Lauge im Ueberschuss angewandt war, wird die Lösung, zumal im Licht, nach einiger Zeit gelb. Ansäuern mit Essigsäure und Salzsäure wandelt das Roth in wenig Minuten in Gelb um. — Nach Johnson[5]) hört die Reaction erst bei einer Verdünnung von 1 : 200 000 auf.

---

[1]) Heckenhayn, Ueber das Vorkommen reducirender Substanzen im Harn. Erlangen 1887. — O. Maschke, Ztschr. f. anal. Ch. **16**. 425. 1877. — Th. B. Offer, Centralbl. f. Physiol. **8**. 801. 1895.

[2]) F. A. Falck, Pflüger's Archiv **26**. 406.

[3]) Colasanti. Moleschott's Untersuchungen **13**; Jahresb. f. Thierch. 1888. 132. — Salkowski, Ztschr. f. physiol. Ch. **13**. 272. 1889. Salkowski und Ken Taniguti, daselbst **14**. 475. 1890. — Halenke, Ztschr. f. Biol. **4**. 95. 1868.

[4]) M. Jaffé, Ztschr. f. physiol. Ch. **10**. 399. 1886.

[5]) G. Stillingfleet Johnson, Pharm. Journ. and Transactions **54**. 603. 1895; Chem. Centralbl. 1895. **1**. 513.

Da pikrinsaures Kali orangegelb, Natriumpikrat dagegen rein gelb ist, so verdient beim Nachweis nur kleiner Mengen Kreatinin die Natronlauge den Vorzug.

Kein anderer der bekannten Harnbestandtheile (Harnstoff, Harnsäure u. s. w.) giebt diese Reaction. Kreatin färbt sich selbst in concentrirter Lösung nur rein gelb, und erst nach längerem Stehen in der Kälte wird die Lösung roth. Traubenzucker verhält sich in der Kälte ebenso (Vergl. § 6. II. B. 5. f. S. 107).) Nur Aceton zeigt eine schwach röthlich gelbe Färbung, welche jedoch mit der viel stärkeren und rein rothen des Kreatinins nicht zu verwechseln ist.

b. Mit m-Dinitrobenzol und Kalilauge giebt das Kreatinin nach v. Bitto[1]) keine Färbung, während bei Gegenwart von Aceton die Lösung stark violettroth, auf Zusatz einer organischen Säure oder von Metaphosphorsäure kirschroth wird.

c. Versetzt man, wie Th. Weyl angegeben hat, eine Kreatininlösung (oder Harn) mit wenig Tropfen sehr verdünnter Lösung von Nitroprussidnatrium und verdünnter Natronlauge, so wird die Flüssigkeit vorübergehend schön rubinroth, dann gelb. Uebersättigt man die Flüssigkeit, wenn sie gelb geworden ist, mit Essigsäure und erhitzt, so färbt sie sich nach Salkowski erst grünlich, dann dauernd blau und endlich entsteht ein Niederschlag von Berlinerblau; in der Kälte findet diese Reaction nicht statt. Statt der Essigsäure lassen sich nach Colasanti[2]) auch andere organische Säuren, auch Bromwasserstoff, Bromsäure etc. verwenden. Man erhält die Probe nach Weyl noch mit mit 5 cc einer Lösung, welche nicht mehr als 0,3 p. m. Kreatinin enthält (auch mit einer Lösung von Kreatinin-Chlorzink).

Nach Guareschi[3]) wird die Probe am Besten erhalten, wenn man zu der wässrigen Kreatininlösung einige Tropfen einer 10 proc. Nitroprussidnatriumlösung und einige Tropfen Soda oder Natronlauge, gleichfalls in 10 proc. Lösung, hinzufügt. Durch Ammoniak oder kohlensaures Ammon lässt sich nach Weyl das Natron nicht ersetzen; bei Anwendung von kohlensaurem Natron statt Natriumhydrat erhält man nur eine schwache Reaction. Zucker oder Eiweiss hindern die Reaction nicht, dagegen höhere Temperaturen.

Von den bisher aus dem Harn dargestellten Körpern giebt nur das Aceton die Reaction; doch verhält es sich dabei insofern anders, als die Flüssigkeit, wenn sie gelb geworden ist, beim Uebersättigen mit Essigsäure wieder roth wird (Legal'sche Acetonprobe, § 5. B. 4. a. S. 57). Kreatin giebt sie nach Weyl nicht, ebenso wenig Sarkosin, Leucin, Glykokoll, Taurin, Tyrosin, Neurin, Guanidin, Schwefelharnstoff, unterschweflige Säure, Ferro- und Ferricyankalium, ferner, nach Guareschi, auch nicht Guanin, Allantoin u. a.

Von nicht im Harn vorkommenden Substanzen erhält man dagegen nach Guareschi die Probe mit Acetessigäther und solchen Körpern, welche, wie das Kreatinin, zwei Atome N an die Gruppe — CH_2 . CO — gebunden enthalten, also den Hydantoinen (das eigentliche Hydantoin, Thiohydantoin, Methylhydantoin, Alaninhydantoin).

---

1) B. v. Bitto, Ann. d. Ch. **269**. 377. 1892.

2) Th. Weyl, Ber. d. chem. Gesellsch. **11**. 2175. — E. Salkowski, Ztschr. f. physiol. Ch. **4**. 133. — Colasanti, Moleschott's Unters. **13**; Jahresber. f. Thierch. 1888. 132.

3) J. Guareschi, Ann. di chim. e di farmacol. [4] **5**. 195; Berichte d. chem. Gesellsch. **21**. Ref. 372. 1888.

d. Kreatinin färbt, wie die Amidosäuren, eine schwach gelbe **Eisenchloridlösung** dunkelroth, die Färbung wird beim Kochen stärker; Kreatinin-Chlorzink verhält sich (in der Wärme) ebenso (Thudichum[1]).

C. *Darstellung.* 1. Zur Gewinnung grösserer Mengen Kreatinin aus Harn befolgt man am Besten das von Liebig angegebene, hier etwas abgeänderte Verfahren.

Man verdampft grössere Mengen Harn, mindestens 50 l, zuerst über freiem Feuer, dann im Wasserbad zu einem mässig dünnen Syrup, macht den gesammten Rückstand, ohne zu filtriren, mit Kalkmilch stark alkalisch, versetzt ihn so lang mit concentrirter Chlorcalciumlösung, bis eine abfiltrirte Probe mit Chlorcalciumlösung keinen Niederschlag mehr giebt und filtrirt jetzt. Das Filtrat wird mit Salzsäure neutralisirt und mit einer syrupdicken neutralen Chlorzinklösung vermischt an einem kühlen Orte stehen gelassen, worauf sich längere Zeit hindurch auf dem Boden und an der Wand des Gefässes unreines Kreatinin-Chlorzink als braune Krystallmasse absetzt. Wenn der Niederschlag nicht mehr zunimmt, giesst man die Mutterlauge ab, vermischt sie aufs Neue mit Chlorzink und überlässt sie wieder der Krystallisation. Man fährt so fort, bis weiter kein Niederschlag entsteht. Zu der bereits einen krystallinischen Niederschlag enthaltenden Flüssigkeit aufs Neue Chlorzink zu setzen, ist nicht räthlich, weil Kreatinin-Chlorzink in Chlorzink nicht unlöslich ist. Die abgeschiedenen Krystalle werden auf einem Filter durch Waschen mit kaltem Wasser vom grössten Theil der Mutterlauge befreit und dann mit einem grossen Ueberschuss von Bleihydrat gekocht, wobei das Kreatinin vom Chlorzink getrennt wird und das Chlorzink sich mit dem Bleihydrat zu Zinkoxyd und Bleioxychlorid umsetzt, die beide unlöslich sind. Das Kreatinin wird aber zugleich zu einem grossen Theil in Kreatin übergeführt, in um so grösserer Menge, je länger das Kochen der alkalischen Flüssigkeit unterhalten wird. Man filtrirt heiss, wäscht mit heissem Wasser nach, befreit Filtrat und Waschwasser von noch in Lösung befindlichem Bleihydrat durch Schwefelwasserstoff und dampft zur Krystallisation ein. Dabei scheidet sich zuerst Kreatin in deutlich ausgebildeten kleinen Prismen aus und lässt sich durch Umkrystallisiren aus Wasser leicht rein erhalten. Das Kreatinin gewinnt man mit dem Rest Kreatin beim Eindampfen der Mutterlauge als schuppige Krystallmasse. Am Zweckmässigsten löst man diese in mässig verdünnter heisser Essigsäure, worauf beim Erkalten, wenn die Lösung concentrirt genug war, Kreatin auskrystallisirt, während Kreatinin neben Farbstoff und anderen fremden Substanzen in Lösung bleibt. Kocht man diese nach dem Verdampfen der überschüssigen Essigsäure mit schwachem Ammoniak so wird das Kreatinin vollends in leicht zu reinigendes Kreatin übergeführt.

Aus dem Kreatin gewinnt man unschwer Kreatinin nach einem gleichfalls von Liebig angegebenem Verfahren. Man übergiesst krystallisirtes Kreatin mit verdünnter Schwefelsäure im Verhältniss von 2 Mol. Kreatin auf 1 Mol. Schwefelsäure (149 Theile Kreatin und 49 Theile Schwefelsäure H_2SO_4) in einer Schale und dampft im Wasserbad ein; das Kreatin wird dabei in Kreatinin übergeführt (§ 37, B. 6. S. 383) und dieses krystallisirt als Sulphat aus. Man löst die Krystalle in möglichst wenig Wasser und trägt in die erwärmte Lösung so lang kohlensauren Baryt ein, als noch Aufbrausen erfolgt. Darauf filtrirt man die heisse Flüssigkeit ab, gewinnt das noch im Niederschlag befindliche Kreatinin durch Ausziehen desselben mit kleinen Portionen Wasser und dampft zur Krystallisation ein.

2. Für die Darstellung von Kreatinin im Kleinen sind mehrere Vorschriften angegeben worden.

---

[1]) Thudichum, Annals of chem. medicine **1**. 1879. 168.

a. Will man sich dazu des Chlorzinks bedienen, so verfährt man nach folgender Methode, welche im Wesentlichen von Neubauer herrührt.

Es werden 200—300 cc Harn oder mehr mit Kalkmilch alkalisch gemacht und mit Chlorcalcium ausgefällt, die Flüssigkeit abfiltrirt, das Filtrat mit Essigsäure neutralisirt oder besser sehr schwach angesäuert und im Wasserbad schnell bis zu Syrupconsistenz verdunstet. Den so erhaltenen Rückstand zieht man mit starkem, am Besten absoluten Alkohol aus, lässt einige Stunden stehen, filtrirt und versetzt die klare Flüssigkeit mit einer concentrirten säurefreien alkoholischen Lösung von Chlorzink. Nach starkem Umrühren tritt bald Trübung ein und nach 48 Stunden ist die Ausscheidung des Kreatinin-Chlorzinks zu Ende; es empfiehlt sich und ist, wenn man saure Harnfiltrate eingedampft hat, unerlässlich, der Flüssigkeit vor dem Zusatz des Chlorzinks ein wenig Lösung von essigsaurem Natron hinzuzufügen, falls man kein Kreatinin verlieren will. Die Verbindung wird auf einem Filter mit Weingeist gewaschen. Um aus ihr Kreatinin darzustellen, löst man die erhaltene Verbindung in wenig heissem Wasser, kocht wenigstens $^1/_4$ Stunde mit Bleihydrat, filtrirt und verdampft das Filtrat zur Trockne. Das im Rückstand befindliche Kreatinin trennt man vom stets gleichzeitig vorhandenen Kreatin durch Lösen in kaltem Alkohol, der es beim Verdunsten hinterlässt. Das Kreatinin wird durch Umkrystallisiren aus Wasser gereinigt.

Da Alkohol dem syrupdicken Harnrückstand das Kreatinin nur unvollständig entzieht, so empfiehlt Salkowski, den Harn nach dem Ausfällen der Phosphorsäure nur auf $^1/_{12}$ des ursprünglichen Harnvolumens zu concentriren und diesen Rückstand in dem 5fachen seines Volumens von absolutem Alkohol zu vertheilen. Nach einer späteren Vorschrift von Salkowski und Taniguti[1]) soll man 300 cc Harn mit 10 cc concentrirter Schwefelsäure auf ein Drittel eindampfen, das Filtrat mit Barytwasser ausfällen, die abfiltrirte Flüssigkeit nach dem Neutralisiren mit Salzsäure eindampfen und den Rückstand mit 95 proc. Alkohol ausziehen. Aus den nach beiden Weisen erhaltenen alkoholischen Lösungen wird das Kreatinin mit wenig alkoholischer Chlorzinklösung abgeschieden.

b. Auf der Verwendung des Quecksilberchlorids als Fällungsmittel des Kreatinins beruhen die zwei nächsten Methoden.

α. Man verdampft nach Maly[2]) den Harn bis auf ein Drittel oder Viertel und trennt nach dem Erkalten von den ausgeschiedenen Salzen. Die Mutterlauge fällt man darauf mit Bleizuckerlösung, entfernt das überschüssige Bleioxyd mit Schwefelwasserstoff und versetzt das mit Soda annähernd neutralisirte Filtrat mit einer concentrirten Sublimatlösung. Der Niederschlag wird unter Wasser mit Schwefelwasserstoff zersetzt, das Filtrat mit Thierkohle entfärbt und zur Krystallisation eingedampft. Durch wiederholtes Umkrystallisiren aus starkem Alkohol erhält man schliesslich weisse Krystallkrusten oder grosse harte glänzende Prismen von salzsaurem Kreatinin. Die Entfernung der Salzsäure bewirkt man mit Bleihydrat, wie C. 2. a. angegeben ist. Nach St. Johnson braucht man dabei das Chlorid mit dem Bleihydrat nicht zu kochen, die Zersetzung geht auch in der Kälte vor sich und man erhält dann vorwiegend oder blos Kreatinin.

β. St. Johnson[3]) verfährt in folgender Weise. Man versetzt den Harn, ohne ihn vorher einzudampfen, mit 0,05 Vol. kalt gesättigter Natriumacetatlösung und 0,25 Vol. gleichfalls kalt gesättigter Quecksilberchloridlösung und filtrirt sofort von dem entstandenen flockigen, die Harnsäure enthaltenden Niederschlag ab. Geht die Flüssigkeit anfangs trüb durchs Filter, so giesst man sie sogleich noch

---

[1]) Salkowski, Ztschr. f. physiol. Ch. **10**. 113. 1886. — Salkowski und Ken Taniguti, daselbst **14**. 471. 1890.

[2]) Maly, Ann. d. Ch. u. Pharm. **159**. 279. 1871.

[3]) G. Stillingfleet Johnson, a. a. O.

einmal auf dasselbe. Das so erhaltene klare Filtrat beginnt sich alsbald abermals, jetzt aber feinkörnig zu trüben und in 48 Stunden ist nach Johnson die Ausscheidung vollendet. Nach meiner Erfahrung trüben sich das erste und die folgenden Filtrate immer wieder und in ihnen ist Kreatinin durch Nitroprussidnatrium, durch Pikrinsäure und durch Chlorzink in nicht unerheblicher Menge nachweisbar. Der ockergelbe Niederschlag, welcher nach Johnson alles Kreatinin enthalten soll, wird mit Schwefelwasserstoff zersetzt und das Filtrat verdunstet, wobei salzsaures Kreatinin auskrystallisirt. Aus diesem erhält man das Kreatinin durch Bleihydrat nach C. 2. b. α.

γ. Kolisch[1]) fällt den Harn mit Kalkmilch und Chlorcalcium aus, dampft nach dem Ansäuern mit Essigsäure ein, kocht den Rückstand mit Alkohol aus und fällt mit einer alkoholischen Quecksilberchloridlösung, welcher etwas Natriumacetat und Essigsäure zugesetzt ist.

c. Die Phosphorwolframsäure ist zuerst von F. Hofmeister[2]) zur Fällung des Kreatinins empfohlen worden.

Es wird der Harn mit $^1/_{10}$ Vol. concentrirter Salzsäure versetzt, dann mit Phosphorwolframsäure ausgefällt, der Niederschlag nach mindestens eintägigem Stehen mit verdünnter Schwefelsäure (5 Vol. concentrirter auf 100 Vol. Wasser) durch Decantiren chlorfrei gewaschen und abgepresst. Man zerrührt denselben darauf mit Barytwasser zu einem dünnen Brei, bringt zum Kochen, setzt noch so viel festes Baryumhydrat zu, dass die Flüssigkeit eine stark alkalische Reaction annimmt, filtrirt, neutralisirt das Filtrat mit Kohlensäure und kocht die Flüssigkeit auf. Das Filtrat wird im Wasserbad concentrirt und mit Chlorzink versetzt; ist Kreatinin-Chlorzink auskrystallisirt, so kann man das Filtrat noch weiter einengen und nochmals mit Chlorzink versetzen. Das Kreatinin-Chlorzink wird nach C. 2. a. mit Bleihydrat behandelt.

d. Kerner hat sich zur Abscheidung des Kreatinins der Phosphormolybdänsäure bedient.

Nach ihm fällt man den Harn mit einer concentrirten Lösung von salpetersaurem Quecksilberoxydul aus, leitet in das Filtrat Schwefelwasserstoff ein, vertreibt diesen aus dem Filtrat durch Erwärmen und Zusatz eines Tropfens Salpetersäure, und versetzt darauf noch warm mit Phosphormolybdänsäure. Nach dem Erkalten und einigem Stehen scheidet sich das phosphormolybdänsaure Kreatinin, namentlich an den mit dem Glasstab geriebenen Stellen der Wand, in charakteristischen mikroskopischen Krystallen aus.

e. In allen diesen Fällen ist aus eiweisshaltigem Harn das Eiweiss vorher zu entfernen. Von diabetischem Harn verwendet man grössere Mengen; vor der Verarbeitung desselben ist es nach Winogradoff, sowie nach Gaethgens[3]) zulässig und zweckmässig, den Zucker durch Bierhefe zur Vergährung zu bringen (vgl. § 6. II. 1. B. 5. k. S. 108).

Verwendet man zur Darstellung des Kreatinins Hundeharn, der reich daran ist, so befreit man ihn gleichfalls erst von der Phosphorsäure, dampft ein, zieht den Rückstand mit Alkohol aus und verdunstet die Lösung. Dabei krystallisirt sehr viel Harnstoff aus, den man nicht zu verlieren braucht; man filtrirt oder saugt die Mutterlauge des Harnstoffs ab und fällt diese mit Chlorzink oder Sublimat. Auch lässt sich, wenn man nach c. verfährt, die Darstellung des Kreatinins mit der von Kynurensäure nach § 24. VI. C. e. (S. 254) verbinden.

---

[1]) R. Kolisch, Centralbl. f. innere Med. 11. 1895; Ztschr. f. anal. Ch. **34**. 485.
[2]) F. Hofmeister, Ztschr. f. physiol. Ch. **5**. 67.
[3]) Winogradoff, Virchow's Archiv, **27**. 563. — Gaethgens, Ztschr. f. analyt. Chem. **8**. 100.

D. *Nachweis.* Von der Anwesenheit des Kreatinins im Harn kann man sich mittelst der Proben von Jaffé und von Weyl (B. 12. a. u. c.) überzeugen, muss aber bei Verwendung der Weyl'schen Probe die Vorsicht gebrauchen, das Aceton vorher wegzukochen. Fallen die Proben zweifelhaft aus oder erscheinen sie aus einem anderen Grunde als unzureichend, so stelle man das Kreatinin nach einer der unter C. 2 angegebenen Methoden dar. Von den dabei gewonnenen Verbindungen bietet das Kreatinin-Chlorzink und das phosphormolybdänsaure Kreatinin charakteristische Formen dar (B. 4. c. u. B. 3. a.). Erhält man das Kreatinin bei seiner Darstellung als Chlorid, so kann man es durch Zusatz von essigsaurem Natron und wenig Chlorzink in krystallinisches Kreatinin-Chlorzink überführen. Man kann weiter mit dem rein dargestellten Kreatinin die Reactionen von Jaffé, Weyl und Thudichum (B. 12. d.) vornehmen und endlich nach Maschke (B. 9. c.) die Substanz auf ihr Reductionsvermögen für Fehling'sche Flüssigkeit prüfen; diese Proben gelingen auch mit Kreatinin-Chlorzink und mit salzsaurem Kreatinin.

Die Reactionen mit Phosphorwolframsäure und Phosphormolybdänsäure (B. 3. a.), mit Pikrinsäure (B. 3. b.), Gold- und Platinchlorid (B. 3. d.), sowie Chlorzink (B. 4. c.) lassen sich mit krystallisirtem Kreatinin auch unter dem Mikroskop anstellen (Kossel[1]).

§ 39. Xanthokreatinin.

A. *Vorkommen.* Aus dem Alkoholauszug von Fleischbrühe, sowie von Fleischextract hat A. Gautier durch fraktionirte Krystallisation eine Reihe basischer Körper gewonnen, unter denen das dem Kreatinin in vielen Stücken sehr ähnliche Xanthokreatinin die Hauptmasse ausmachte, Kreatinin aber nicht vorkam. Von dieser Substanz giebt Monari an, sie im Harn von Hunden und Menschen nach starker Muskelanstrengung und im Harn von Hunden nach Injection von Kreatinin in die Leibeshöhle und Colasanti, sie wiederholt in erheblichen Mengen im Harn des Löwen gefunden zu haben. Stadthagen[2]) stellt die Existenz der Verbindung völlig in Frage und hält die aus Harn nach Muskelanstrengung gewonnene Substanz für unreines Kreatinin, was wohl kaum zu bezweifeln ist.

B. *Eigenschaften.* Das Xanthokreatinin besitzt nach Gautier die Zusammensetzung $C_5H_{10}N_4O$, unterscheidet sich also vom Kreatinin $C_4H_7N_3O$ durch ein Plus von CH_3N. Es bildet schwefelgelbe cholesterinartige dünne fast rechtwinklige sich fettig anfühlende Plättchen von schwach bitterem Geschmack. Die heisse alkoholische Lösung riecht nach Acetamid, die kalte schwach cadaverös. Beim Erhitzen in Substanz entwickelt es Bratengeruch, bräunt sich, verkohlt theilweise und giebt Ammoniak und Methylamin aus. Es löst sich leicht in kaltem Wasser und löst sich auch in absolutem Alkohol. Gegen Lackmus reagirt es amphoter.

---

1) Kossel, a. a. O.

2) A. Gautier, Bull. de l'Acad. de méd. [2] **15**. 123. 1886; Bull. de la Soc. chim. [2] **48**. 16. 1887. — Ad. Monari, Atti r. acad. dei Lincei **2**. 202. 1886; Berichte d. chem. Gesellsch. **20**. Ref. 225; Gaz. chim. ital. 1887; Chem. Centralbl. 1887. 340 u. 1562. — G. Colasanti, Gaz. chim. **21**. II. 182; Jahresb. f. Thierch. 1891. 162. — M. Stadthagen, Ztschr. f. klin. Med. **15**. 390. 1889.

Mit Salzsäure giebt das Xanthokreatinin federfahnenähnliche Krystalle. Das Chloroplatinat bildet leicht lösliche lange Krystallbüschel. Das Chloraurat krystallisirt schwer.

Chlorzink giebt mit der Basis einen gelblich weissen Niederschlag, der sich in der Wärme unter theilweiser Zersetzung löst und beim Erkalten wieder in vereinzelten oder zu schiefen Kreuzen und Sternen angeordneten feinen Nadeln ausfällt. Silbernitrat erzeugt in der Kälte einen amorphen Niederschlag, welcher sich in der Wärme löst und darauf in Nadeln krystallisirt. Quecksilberchlorid ruft einen gelblich weissen Niederschlag hervor, mittelst dessen man die Basis von etwa beigemengten löslichen Chloriden befreien kann. Oxalsäure, sowie Salpetersäure bewirken selbst in der concentrirten Lösung keinen Niederschlag. Essigsaures Kupfer fällt weder in der Kälte, noch in der Wärme.

Kaliumquecksilberchlorid sowie Jodjodkalium veranlassen keine Niederschläge. Phosphormolybdänsaures Natron giebt nach einiger Zeit gelbliche, in der Wärme etwas lösliche Krümel. Tannin trübt nach einiger Zeit.

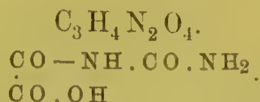
Uebermangansaures Kali verwandelt die Substanz bei 30—40° in eine schwarze, in Säuren und Alkalien unlösliche, dem Azulmin ähnliche Masse. — Frisch gefälltes Quecksilberoxyd oxydirt die Basis leicht; das Produkt lässt sich durch Alkohol in zwei Substanzen scheiden, von denen die eine sehr leicht löslich und hygroskopisch ist, die andere, in beträchtlicherer Menge entstehende aus Alkohol von 93% auf Zusatz von Aether weisse seidenglänzende Nadeln vom Schmelzpunkt 174° absetzt; diese Nadeln sind schwach alkalisch und geben mit Platinchlorid ein schwer lösliches Salz in derben Krystallen und in der Wärme einen flockigen Niederschlag.

In etwas grösserer Gabe ist das Xanthokreatinin giftig; es bewirkt Ermattung, Schlafsucht, Erbrechen und Durchfall.

C. *Nachweis.* Das Xanthokreatinin, welches Monari im Harn nachgewiesen zu haben glaubt, gewann er nach dem von Neubauer für die Darstellung von Kreatinin angegebenen Verfahren (§ 38. C. 2. a. S. 396). Die Zusammensetzung des Chlorzinkniederschlags entsprach annähernd der Formel $(C_5H_{10}N_4O)_2 . ZnCl_2$. Die Verbindung war pulverig, blassgelb oder citronengelb und liess sich nicht entfärben. Sie enthielt noch Kreatinin, von welchem sich das Xanthokreatinin durch fraktionirte Fällung nicht vollständig trennen liess. Durch Behandlung der Chlorzinkverbindung mit Bleihydrat schien das Xanthokreatinin in Kreatinin überzugehen; in der Mutterlauge blieb eine Spur einer nicht krystallisirenden Basis, welche nicht durch Chlorzink, wohl aber durch Platinchlorid, leichter noch durch Goldchlorid gefällt wurde.

Stadthagen verfuhr zur Darstellung der Basis aus Harn ähnlich wie Gautier bei der Gewinnung derselben aus Fleischsaft. Der Harn wurde bei einer 50° nicht überschreitenden Temperatur im Vacuum eingedampft, der Rückstand mit heissem absoluten Alkohol erschöpft, der Auszug nach 24 Stunden filtrirt und mit Aether gefällt, wobei ein syrupöser brauner Niederschlag entstand. Die von ihm abgegossene Flüssigkeit gab auf weiteren Aetherzusatz einen grobflockigen Niederschlag, der in warmem 95 proc. Alkohol gelöst und mit alkoholischer Chlorzinklösung gefällt wurde. Der Chlorzinkniederschlag war gelblich und besass alle Eigenschaften des rohen Kreatininchlorzinks. Nach dem Waschen mit starker Essigsäure und Wasser und dem Trocknen über Kali gab er bei der Analyse 29,1% C, 5,3 H, 21,7 N und 18,4 Cl, während Kreatinin-Chlorzink 26,5% C, 3,8 H, 23,2 N und 19,5 Cl, Xanthokreatinin-Chlorzink 28.5% C, 4,7 H, 26,6 N, 16,9 Cl enthält. Stickstoff und Chlor standen in der Verbindung in demselben Mengenverhältniss wie im Kreatinin-Chlorzink. Durch Umkrystallisiren des vermeintlichen Xanthokreatinin-Chlorzinks aus Salzsäure wurde reines Kreatinin-Chlorzink erhalten.

§ 40. Oxalursäure.



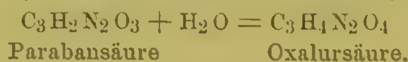
$C_3H_4N_2O_4$.

CO — NH . CO . NH$_2$
CO . OH

A. *Vorkommen.* Die Oxalursäure ist von Schunck in minimalen Mengen im normalen Harn nachgewiesen worden. Neubauer konnte diesen Befund bestätigen. 100—150 Liter Harn geben nur soviel derselben, dass die charakteristischen Reactionen mit ihr angestellt werden können. — Eine der Oxalursäure ähnliche, mit ihr aber wohl nicht identische Säure fand G. Meissner[1]) im Harn eines mit Kartoffeln und Eiern gefütterten Hundes.

Die Oxalursäure, welche beim Filtriren von Harn durch Thierkohle gefunden wurde, braucht nicht fertig gebildet im Harn gewesen zu sein; sie könnte sich auch in Folge der Harnfäulniss gebildet haben (§ 33. B. 5. b. S. 321.)

Oxalursäure bildet sich beim Kochen der Parabansäure (§ 33. B. 5. g. S. 324) mit Ammoniak oder bei gelindem Erwärmen mit Säuren, nach



$$\underset{\text{Parabansäure}}{C_3H_2N_2O_3} + H_2O = \underset{\text{Oxalursäure.}}{C_3H_4N_2O_4}$$

B. *Eigenschaften.* 1. Weisses, sauer schmeckendes und sauer reagirendes, in Wasser sehr schwer lösliches Krystallpulver.

2. Sie bildet mit Basen Salze. Die oxalursauren Alkalien und das oxalursaure Ammon sind in Wasser löslich, die übrigen Salze schwer löslich oder unlöslich.

a. Oxalursaures Ammon, $C_3H_3(NH_4)N_2O_4$. Seidenglänzende, lange, an den Enden zugespitzte Prismen, die sich zu schönen Doppelbüscheln oder zu mehr oder weniger vollständigen Rosetten anordnen. Löst sich leichter in kaltem Wasser, als die Säure; eine concentrirte Lösung des Salzes giebt daher mit Säuren einen Niederschlag von Oxalursäure. Leichter löslich in heissem Wasser und in heissem Alkohol.

b. Eine verdünnte Lösung von oxalursaurem Ammon giebt mit Chlorcalcium und Ammoniak keinen Niederschlag, eine concentrirte dagegen einen dicken gelatinösen des Calciumsalzes, der sich schwer in Wasser, leicht dagegen in verdünnten Säuren, selbst in Essigsäure löst. — Auch das Barytsalz löst sich in Essigsäure.

c. Eine wässrige Lösung von oxalursaurem Ammon giebt mit Silbersalpeter nicht sogleich einen Niederschlag; nach wenigen Augenblicken aber scheiden sich feine Krystallnadeln von oxalursaurem Silber aus, die bei genügender Concentration schliesslich die ganze Flüssigkeit erfüllen und unter dem Mikroskop äusserst zierliche, aus haarfeinen Nadeln zusammengesetzte Sterne und Rosetten zeigen. Das Silbersalz schwärzt sich im Lichte nicht. Es löst sich unverändert in heissem Wasser, sowie leicht in Ammoniak; die ammoniakalische Lösung wird beim Kochen nicht reducirt.

d. Eine mässig concentrirte Lösung von reinem oxalursauren Ammon giebt mit Bleizuckerlösung versetzt im ersten Augenblick keinen Niederschlag. Nach einigen Minuten trübt sich die Mischung und oxalursaures Bleioxyd scheidet

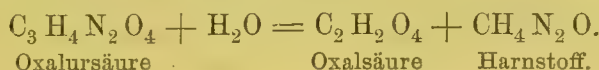
---

[1]) E. Schunck, Proc. of the roy. Soc. **16**. 140. 1866. — Neubauer, Ztschr. f. analyt. Ch. **7**. 225. 1868. — G. Meissner, Ztschr. f. rat. Med. [3] **31**. 318.

sich als schweres krystallinisches Pulver aus, welches unter dem Mikroskop, bei starker Vergrösserung, sehr wohl ausgebildete vierseitige Prismen mit 6 Endflächen zeigt.

e. Aus mässig concentrirten Lösungen von oxalursaurem Ammon scheiden sich auch auf Zusatz von Chlorcadmium oder Chlorzink nach längerem Stehen krystallinische Salze dieser Basen aus, die unter dem Mikroskop gleichfalls sehr charakteristische Formen zeigen (Neubauer).

3. Die Oxalursäure zerfällt namentlich unter der Einwirkung von Säuren leicht in Oxalsäure und Harnstoff:



$$C_3H_4N_2O_4 + H_2O = C_2H_2O_4 + CH_4N_2O.$$

Oxalursäure Oxalsäure Harnstoff.

a. Versetzt man eine Lösung von oxalursaurem Ammon mit Salpetersäure, so scheidet sich, je nach der Concentration sogleich oder erst nach längerem Stehen, ein weisses Krystallpulver von meistens undeutlich entwickelten Oxalursäure-Krystallen aus. Nach kurzem oder längerem Stehen, oft erst nach mehreren Tagen, verschwindet die ausgeschiedene Oxalursäure in der salpetersauren Flüssigkeit wieder, und lässt man von dieser Lösung einen Tropfen auf dem Objectträger verdunsten, so gelingt es mit Leichtigkeit, die charakteristischen Formen des salpetersauren Harnstoffs unter dem Mikroskop zu entdecken.

b. Erwärmt man eine Lösung von oxalursaurem Kalk in Essigsäure, so tritt sehr bald, noch weit vor der Siedhitze, Trübung ein und oxalsaurer Kalk scheidet sich massenhaft aus; aus concentrirten Lösungen fällt der oxalsaure Kalk amorph, aus verdünnten dagegen kann er sich namentlich bei Gegenwart von Unreinigkeiten, welche die Abscheidung des Oxalats verzögern, krystallisirt absetzen.

Ebenso liefert eine Lösung von oxalursaurem Baryt in Essigsäure beim Kochen sofort einen Niederschlag von oxalsaurem Baryt.

C. *Nachweis.* Zur Abscheidung der Oxalursäure aus Harn wird derselbe sehr langsam durch eine relativ kleine Menge Thierkohle filtrirt, bis der Harn endlich von der Kohle nicht mehr entfärbt wird.

Die Kohle wird darauf mit destillirtem Wasser gewaschen, bis im Filtrat weder Salzsäure noch Phosphorsäure nachweisbar sind, an der Luft getrocknet und mit Alkohol ausgekocht. Man destillirt den Alkohol ab und zieht den Rückstand mit warmem Wasser aus; die wässerige, braune Lösung liefert nach dem Verdunsten einen syrupartigen Rückstand, aus welchem sich nach längerem Stehen in der Kälte oxalursaures Ammon krystallinisch ausscheidet. Um diesen Process abzukürzen, hat Neubauer mit bestem Erfolg die Dialyse durch Pergamentpapier in Anwendung gebracht. Ist die Trennung auch keine absolut vollständige, so erstarrt das genügend concentrirte Diffusat doch bald krystallinisch. Die Reste der syrupartigen Mutterlauge entfernt man mit absolutem Alkohol, wäscht den krystallinischen Rückstand noch einige Mal mit Alkohol nach, löst ihn darauf in heissem Wasser, digerirt die erhaltene Lösung mit einer sehr geringen Menge gereinigter Thierkohle, filtrirt und verdunstet das farblose Filtrat, worauf sich bei genügender Concentration das oxalursure Ammon rein ausscheidet.

Das oxalursaure Ammon wird an der Krystallform und durch die unter B. 2 und 3 angeführten Reactionen erkannt. Die Darstellung von oxalursaurem Blei ist besonders verwendbar bei nicht ganz reinen Lösungen. In diesem Falle versetzt man nach Neubauer eine wässrige, mässig concentrirte Lösung des Ammonsalzes mit etwas neutralem essigsauren Blei; entsteht dabei sogleich ein Niederschlag, so filtrirt man diesen ab und überlässt das Filtrat der Ruhe, worauf sich bald oxalursaures Blei in charakteristischen Krystallen ausscheidet.

§ 41. Unbenannte basische Körper.

1. Substanz von Baumstark.

Eine dem Allantoin in analytischer Hinsicht sehr ähnliche Verbindung, $C_3H_8N_2O$, ist von F. Baumstark[1]) im Harn aufgefunden worden.

A. *Vorkommen.* In 40 Ltr. Menschenharn fand sich nur soviel, dass die Anwesenheit der Verbindung dargethan werden konnte; in beträchtlicherer Menge wurde sie bei Icterus nachgewiesen, unter einer grösseren Reihe von Fällen aber nur einmal. Im normalen Hundeharn wurde sie nicht angetroffen, aber einmal kurze Zeit im Harn eines Hundes, der Benzoësäure zu seinem Futter erhielt.

B. *Eigenschaften.* Sie krystallisirt aus Wasser in weissen, der Hippursäure gleichenden Säulen. Die über Schwefelsäure getrockneten Krystalle decrepitiren beim Erwärmen, bleiben bis 250° unverändert, stossen in höherer Temperatur dicke weisse Dämpfe von eigenthümlichem Geruch aus, schmelzen dann und verbrennen endlich unter dem Geruch nach verbranntem Horn.

Die Substanz löst sich ziemlich leicht in heissem Wasser, schwer in kaltem Wasser und in Weingeist, nicht in absolutem Alkohol oder Aether; die Lösungen reagiren neutral.

Sie bildet mit Säuren leicht lösliche Salze. Die Verbindung mit Salzsäure, $C_3H_8N_2O$, HCl, krystallisirt schwer und in dendritenförmigen Massen, ist zerfliesslich und löst sich in Weingeist. Mit Basen verbindet sich die Substanz nicht, ihre wässrige Lösung giebt aber mit salpetersaurem Quecksilberoxyd einen Niederschlag.

Beim Erhitzen im Glasrohr entwickelt die Substanz ein brennbares, nach Aethylamin riechendes Gas, ebenso beim Erhitzen mit Natronkalk. Beim Kochen mit Barytwasser giebt sie zuerst die Hälfte ihres Stickstoffs als Ammoniak ab, dann den Rest als Aethylamin; zurück bleibt kohlensaurer Baryt.

Bei der Behandlung des Körpers mit salpetriger Säure liefert er Fleischmilchsäure.

C. *Darstellung.* Die Substanz wurde nach folgendem Verfahren gewonnen. Der Harn wurde zum dicken Syrup verdunstet, noch warm mit absolutem Alkohol ausgefällt, vom Filtrat der Alkohol vollständig abdestillirt und der Destillationsrückstand durch starkes Ansäuern mit Salzsäure und Schütteln mit Aether von der Hippursäure befreit. Darauf wurde die rückständige Flüssigkeit mit Ammoniak übersättigt, mit Bleiessig vollständig ausgefällt, das Filtrat mit Schwefelwasserstoff behandelt und zum dicken Syrup eingedampft. Es krystallisirte dann der Harnstoff mit der Substanz aus. Die Krystallmasse wurde mit soviel starkem Alkohol versetzt, dass eine leicht filtrirende Harnstofflösung entstand, diese Lösung abfiltrirt, die rückständigen Krystalle mit Alkohol gut ausgewaschen und unter Zusatz von etwas Thierkohle aus heissem Wasser krystallisirt.

2. Substanz von Meissner.

G. Meissner[2]) fand im Harn von Hunden, welche mit Brod gefüttert wurden, bei Abwesenheit von Harnsäure neben reichlich ausgeschiedenem Allantoin noch einen besonderen Körper.

Derselbe schied sich bei der Verarbeitung des Harns nach § 36. D. 1. b. S. 380 aus dem Alkoholextract auf Zusatz von Aether zugleich mit dem Allantoin in schönen farblosen Warzen von seidenglänzenden Krystallnadeln (vierseitigen Prismen)

---

1) F. Baumstark, Berichte der chem. Gesellsch. **6**. 883 u. 1378; Ann. d. Chemie **173**. 342.

2) G. Meissner, Ztschr. f. rat. Med. [3] **31**. 317.

aus. Er löste sich leicht in Wasser, löste sich auch in siedendem Alkohol und schied sich beim Stehen der Lösung wieder aus. Die wässrige Lösung des aus Alkohol umkrystallisirten Körpers reagirte neutral. Er löste sich in verdünnter Salzsäure, sowie in verdünnter kalter Salpetersäure und krystallisirte aus diesen Lösungen wieder unverändert aus.

Die Substanz war stickstoffreich, aber frei von Schwefel, schmolz bei ungefähr 150° zu einer gelben Flüssigkeit, welche bei 105—106° wieder zu den ursprünglichen Krystallen erstarrte. Bei 200° entwickelte die geschmolzene Masse Gasbläschen unter Verbreitung eines intensiven Geruchs nach Hundeharn, bei weiterem Erhitzen schwärzte sich der Rückstand, stiess dicke weisse Nebel aus, und verbrannte endlich schnell ohne Asche.

Wurde die Substanz mit Salpetersäure erhitzt, so zersetzte sie sich unter Gasentwicklung und hinterliess dann ein in Blätterbüscheln krystallisirendes Produkt. — Beim Kochen des Körpers mit Barytwasser bildete sich kohlensaurer Baryt und, wie es schien, eine Säure.

§ 42. Ptomaine.

Ptomaine (πτῶμα, Leichnam) nannte Selmi die bei der Fäulniss thierischer Substanz entstehenden alkaloidartigen Verbindungen (Leichenalkaloide); die giftigen derselben bezeichnet Brieger als Toxine. Für die im pathologischen Harn auftretenden Ptomaine schlug Selmi den Namen Pathoamine vor, Andere brauchen dafür den Ausdruck Urotoxine. Unter Leukomainen (λεύκωμα, Eiereiweiss) versteht A. Gautier die im gesunden Organismus vorkommenden Basen (Kreatinin, Xanthin etc.).

A. *Vorkommen.* Aeltere und neuere physiologische Versuche haben ergeben, dass der Harn von der Blutbahn aus giftig wirkt. Die Giftigkeit des menschlichen Harns ist sehr verschieden und verschiedene Thierarten setzen der Giftwirkung des Harns einen ungleich grossen Widerstand entgegen. Nach Bouchard[1]) kann man ein Kaninchen tödten, wenn man ihm pro Kilo Körpergewicht im Mittel 45 cc normalen menschlichen Harn auf einmal injicirt; für Hunde sind dazu nach Lépine und Aubert[2]) 60 cc Harn auf das Kilo Körpergewicht, nach Feltz und Ritter[3]) ungefähr $^1/_{15}$ vom Gewicht des Hundes erforderlich, mit wesentlichen, von der Race abhängigen Schwankungen. Den Grad der Giftigkeit des menschlichen Harns bestimmt Bouchard nach dem Gewicht Kaninchen in Kilo, welche durch die vom Kilo Körpergewicht des Versuchsindividuums in 24 Stunden entleerte Harnmenge getödtet wird; diese Grösse nennt er den toxischen Coefficienten des Harns (urotox. Coeff.). Beim gesunden Erwachsenen beträgt er 0,465, in Krankheiten schwankt er zwischen 2 und 0,1.

Ein gesunder Erwachsener scheidet also auf das Kilo seines Gewichts in 24 Stunden so viel Gift aus, dass 465 gr Kaninchen getödtet werden; oder, um ein Kaninchen von 1,860 kg zu tödten, ist die vierfache Menge Gift nöthig, welche ein Erwachsener in 24 Stunden vom Kilo seines Gewichts ausscheidet.

---

1) Ch. Bouchard, Comptes rendus **102**. 669. 1886.
2) R. Lépine u. P. Aubert, Comptes rendus **101**. 90. 1885.
3) Feltz u. Ritter, Comptes rendus **102**. 880.

Die Giftigkeit des Harns ist zweifellos bedingt durch anorganische Bestandtheile desselben, vor Allem, was längst bekannt ist, durch die Kalisalze, aber nicht durch diese allein, wie sich schon aus Versuchen mit dem Harn direct ergiebt.

Nach Bouchard[1]) ist die Giftigkeit des normalen Harns unabhängig von seiner Concentration. Trotz seiner grösseren Dichte ist der Nachtharn nicht so giftig als der Tagharn. Theilt man den Tag in drei 8 stündige Perioden, so verhält sich die Giftigkeit des in der Nacht secernirten zum Vormittag- und Nachmittagharn wie 3 : 7 : 5. Dieses Verhältniss bleibt auch bestehen, wenn zum Beginn jeder Periode dieselbe Nahrung in gleicher Menge genommen wird (3 : 7,5 : 5,5). In beiden Fällen ist der Harn zu Beginn des Schlafes am Wenigsten giftig, von da an nimmt seine Giftigkeit zu bis zu Ende der 2. Periode. Lebhafte Muskelthätigkeit in freier Luft, sowie das Athmen von comprimirter Luft setzt die Giftigkeit des Harns herab. Die Harne der verschiedenen Tageszeiten unterscheiden sich auch in der Art der Giftwirkung; der Nachtharn verursacht Convulsionen, der Tagharn wirkt narkotisch. Beide Gifte sind Antagonisten; ein Gemisch von Tag- und Nachtharn kann (um $^1/_3$) weniger giftig sein, als sich nach der Wirkung jedes berechnet.

Ueber den Einfluss der Art der Nahrung auf die Giftigkeit des Harns haben Charrin und Roger[2]) ermittelt, dass Milchdiät und Hunger die Giftigkeit des Harns herabsetzen.

Der Harn verschiedener Thiere besitzt einen sehr verschiedenen Grad der Giftigkeit. Nach Guinard[3]) wird bei intravenöser Injection 1 kg Kaninchen getödtet durch 193 cc Harn vom Hunde, 132,7 cc vom Menschen, 53 vom Schwein, 38,5 vom Rind, 35 vom Meerschweinchen, 33,8 vom Hammel, 32 von der Ziege, 29,4 vom Esel, 29,2 vom Pferd, 15 vom Kaninchen, 13 von der Katze.

Wie bereits bemerkt, ist im Allgemeinen der Harn von Kranken giftiger als der von Gesunden. Nach Feltz und Ehrmann[4]) ist der Harn Fieberkranker (Typhus, Scharlach, acute Tuberkulose, Pneumonie, acuter Gelenkrheumatismus) $1^1/_2$—2 mal so giftig, wie der Gesunder. Die Giftigkeit ist auch hier nicht proportional der Dichte. Harn von 1,007 Dichte kann ebenso giftig sein wie solcher von 1,024. Ebenso ist icterischer Harn (bei Leberaffectionen), Eiweissharn in Begleitung schwerer Nierenerkrankung, Harn bei Krebskachexie und schwerer Anämie unabhängig von der Dichte, viel giftiger als der Gesunder. Diabetischer Harn ist wenn der Kranke nicht kachektisch ist, trotz seiner grossen Dichte nicht giftiger als normaler.

Die Symptome, welche der Harn von Kranken bewirkt, sind nach Feltz jedoch keine andern, als die von normalem Harn hervorgerufenen; der Harn Kranker ist nur darum giftiger, weil er reicher an dem Gift des normalen Harns ist. Lépine und Aubert[5]) dagegen finden, dass der Fieberharn andere Erscheinungen bewirkt, als der normale, namentlich klonische Krämpfe.

Beachtenswerth ist in dieser Hinsicht auch, dass, wie Charrin[6]) angiebt, der Harn Icterischer bei intestinaler Antisepsis an Giftigkeit verliert.

---

[1]) Bouchard, a. a. O. 727 u. 1127.

[2]) Charrin u. Roger, Comptes rendus de la Soc. de Biol. 1887. 145; Jahresber. f. Thierch. 1887. 430.

[3]) L. Guinard, Comptes rendus de la Soc. de Biol. [9] **5**. 493. 1893; Centralbl. f. Physiol. **7**. 727.

[4]) V. Feltz u. P. Ehrmann, Comptes rendus **102**. 880. 1886; **104**. 1877. 1887.

[5]) Lépine u. Aubert a. a. O.

[6]) Charrin. Journ. de Chim. et de Pharm. **16**. 241. 1887; Archiv d. Pharm. [3] **25**. 1027.

Es hat sich ferner herausgestellt, dass die Giftigkeit des Harns zu seinem Gehalt an Kali in keinem Verhältniss steht, dass der Harn giftiger ist als die Harnasche und dass vom Kali befreiter Harn nach Schiffer, sowie nach Charrin und Roger[1]) noch giftig ist.

Von der Giftigkeit des Tagharns entfällt nach Bouchard 1/5, von der des Nachtharns 1/3 auf das Kali. Nach Charrin und Roger beruht beim Harn des Menschen die Giftigkeit zu höchstens 45 % auf der Wirkung des Kalis, beim Kaninchenharn zu 75—80 %, beim Harn des Meerschweinchens zu 71—80 %, bei dem des Hundes zu 71 %.

Wenn man nach Lépine und Aubert vom normalen Harn 60 cc braucht, um einen Hund zu tödten, braucht man dazu für einen Hund gleicher Grösse und gleicher Race die Asche von 65 cc desselben Harns. Vom Harn Fiebernder entsprechen 25 cc der Asche aus 40 cc desselben Harns.

Da es Stadthagen[2]) und Anderen nicht gelang, bekannte giftige Stoffwechselprodukte (Peptotoxin, Guanidin, Methylguanidin, Cholin, Neurin) aus normalem Harn darzustellen, er ferner auch bei der Untersuchung von normalem Harn nach der von Brieger zur Darstellung von Ptomainen benutzten Fällung mit Quecksilberchlorid keine giftige Substanz auffand, so hält er die Giftwirkung des normalen Harns bedingt durch die Summe der Giftwirkungen des Kalis und anderer für sich wenig giftiger normaler Harnbestandtheile (Harnstoff, Kreatinin, Xanthinbasen etc.).

B. *Eigenschaften.* Das Bestreben ist bisher fast allein auf die Auffindung basischer Substanz gerichtet gewesen, obwohl nicht erwiesen ist, dass die im Harn vorkommenden organischen Gifte blos dieser Art sind. Mairet und Bosc bezeichnen die Harnfarbstoffe des menschlichen Harns als giftig und schreiben ihnen ausschliesslich die Giftwirkung zu. Mme Eliacheff fand die nicht dialysirbaren Bestandtheile des Harns giftig; Charrin und Le Noir sahen nach subcutaner Injection des löslichen Antheils mit Alkohol gefällten Harns fiebernder Tuberkulöser beim Kaninchen Gefässerweiterung eintreten, wie Bouchard nach der Anwendung von Tuberkulin. Ob die von Dupré und Bence Jones[3]) auch im Harn nachgewiesene, in schwefelsaurer Lösung grünlich-blau fluorescirende Substanz (das »animale Chinoidin«) zu diesen gehört, muss dahin gestellt bleiben.

Mairet und Bosc verfuhren zur Darstellung der Harnfarbstoffe in folgender Weise. Der Harn wird mit Bleiessig ausgefällt, der Niederschlag auf dem Filter mit Wasser gewaschen und darauf in der Kälte so oft mit essigsäurehaltigem

---

1) Schiffer, Du Bois' Archiv 1883. 127; Deutsche med. Wochenschr. 1883. 229; Verhandl. des 3. Congresses f. innere Med. 1883/84. 13. — Charrin und Roger, Comptes rendus de la Soc. de Biol. 1886. 607; Jahresber. f. Thierch. 1886. 489 u. a. a. O.

2) M. Stadthagen, Ztschr. f. klin. Med. **15**. 383. 1889.

3) Mairet u. Bosc, Comptes rendus de la Soc. de Biol. [9] **3**. 94. 1891; Centralbl. f. Physiol. **5**. 140. — Mme P. Eliacheff, Mém. de la Soc. de Biol. [9] **3**. 71. 1891; Centralbl. f. Physiol. **5**. 606. — Charrin u. le Noir, Comptes rendus de la Soc. de Biol. [9] **5**. 769. 1893. — Dupré u. H. Bence Jones, Proc. London Roy. Soc. **15**. 73. 1866; Med. Times and Gaz., Aug. 18. 1866. 163 Schmidt's Jahrbb. **132**. 4.

Aether behandelt, als dieser noch Farbstoff aufnimmt. Das in Lösung gegangene Blei wird durch Schwefelwasserstoff entfernt, das Schwefelblei wieder mit der Mischung von Essigsäure und Aether gewaschen. Die Lösung wird dann auf dem Wasserbad zur Trockne verdunstet. Um die geringe Menge Farbstoff zu gewinnen, welche der Fällung mit dem Bleiacetat entgeht, wird das gelbe Filtrat mit Thierkohle entfärbt, die Kohle einige Male mit Wasser gewaschen und ihr der Farbstoff durch die möglich geringste Menge Natriumcarbonat entzogen. Das Filtrat vom Bleiniederschlag scheidet ausserdem noch ein goldgelbes Urat ab, welchem der Farbstoff durch essigsäurehaltigen Aether entzogen wird. Die Mischung der drei Präparate in wässriger Lösung reagirt neutral, besitzt die Farbe und den Geruch des Harns, enthält nur Spuren Harnstoff und Harnsäure und an Mineralsubstanz (Chloride, Sulphate, Phosphate) 0,1 %. Die Lösung des Farbstoffes aus 150 cc Harn tödtet ein Kaninchen ganz unter denselben Erscheinungen wie der Harn selbst. Enthielte der ätherische Auszug auch die Alkaloide des Harns, so können sie nach Mairet und Bosc doch nur in so geringer Menge vorhanden sein, dass ihnen die Giftwirkung nicht zuzuschreiben ist.

1. Einen basischen Körper der fraglichen Art hat zuerst Pouchet[1]) im normalen Harn aufgefunden.

Die bei der Verarbeitung des Harns auf die Xanthinbasen bleibende Mutterlauge, aus welcher durch ammoniakalische Silberlösung das Carnin gefällt worden war (§ 34. C. I. 4. S. 365), wurde auf dem Wasserbade vom Ammoniak befreit und in Wasserbadwärme mit Schwefelwasserstoff behandelt. Das Filtrat wurde auf dem Wasserbad zum Syrup verdunstet, dann zwei oder dreimal mit Alkohol und etwas Schwefelsäure eingedampft, um alle Salze in Sulphate überzuführen und zugleich die flüchtigen Säuren (Salzsäure, Essigsäure) als Ester zu entfernen. Die wieder zum Syrup eingedampfte Flüssigkeit wurde darauf mit 15—20 Vol. 95 proc. Alkohol versetzt; der entstehende Niederschlag enthält alle Salze neben etwas Kreatin und Kreatinin und manchmal auch Tyrosin. Bei dem Versuch, der Salzmasse das Kreatin und Kreatinin durch siedenden 50 proc. Alkohol zu entziehen, wurde auch ein Alkaloid in kleiner Menge gewonnen.

Das Alkaloid krystallisirt im Vacuum langsam in dünnen sehr zerfliesslichen Nadeln, löst sich wenig in Alkohol, nicht in Aether, reagirt schwach alkalisch und giebt mit Säuren krystallisirende Salze. Das Chlorhydrat bildet concentrisch gruppirte Nadeln und giebt mit Platinchlorid, Goldchlorid und Quecksilberchlorid zerfliessliche, aber in Alkohol und Aether unlösliche Verbindungen. Das Chlorid giebt ferner mit Nessler'schem Reagens einen gelblich weissen Niederschlag, reducirt aber das Reagens nicht und unterscheidet sich so vom Kreatinin; es liefert ferner mit Jodjodkalium einen braungelben Niederschlag. — Das Chloroplatinat besteht aus goldgelben orthorhombischen Prismen. — Das Chloraurat krystallisirt in canariengelben langen Nadeln und löst sich sehr leicht in Wasser.

Gautier[2]) fügt dieser Beschreibung der Basis hinzu, dass sie eine Mischung von Eisenchlorid und Ferricyankalium sehr schnell blau färbt (Bouchardat'sche Reaction) und dass sie giftig ist.

In der Fortsetzung dieser Untersuchungen ist es Pouchet[3]) gelungen, von zwei aus normalem Harn gewonnenen Basen die Zusammensetzung zu ermitteln.

---

1) A. Gabr. Pouchet, Contrib. à la conn. des mat. extract. de l'urine. Paris 1880. 19.

2) A. Gautier, Journ. de l'anat. et de la physiol. 1881. 330; Virchow-Hirsch's Jahresb. 1881. **1**. 126.

3) Pouchet, Comptes rendus **97**. 1560. 1883.

Er fällte die Basen mit Tannin (im Ueberschuss aus schwach alkalischer Lösung, Gautier[1]) und zerlegte die Niederschläge mit Bleihydrat in Gegenwart erst von starkem, dann von schwachem Alkohol. Die alkoholischen Lösungen lieferten einen Syrup, der durch Dialyse in einen schwer dialysirbaren flüssigen und in einen krystallinische Substanzen enthaltenden Antheil zerlegt wurde.

Der flüssige Antheil ist syrupös, krystallisirt selbst bei langem Verweilen im trockenen Vacuum nicht, reagirt neutral, giebt mit den allgemeinen Alkaloidreagentien Niederschläge, verändert sich ziemlich leicht an der Luft, wird durch Salzsäure verharzt und durch Platinchlorid schnell oxydirt. Er besitzt immer die Zusammensetzung $C_3H_5NO_2$.

Aus dem leicht dialysirbaren Theil wurde eine Substanz isolirt, welche in spindelförmigen, zu Kugeln geordneten Nadeln krystallisirt, sich in schwachem Alkohol löst, in starkem Alkohol fast unlöslich, in Aether ganz unlöslich ist, schwach alkalisch reagirt und mit Säuren Salze bildet. Das Chloroplatinat krystallisirt in goldgelben orthorhombischen zerfliesslichen Prismen. Der Basis selbst kommt die Formel $C_7H_{12}N_4O_2$ oder $C_7H_{14}N_4O_2$ zu.

Diese Stoffe sind für Frösche sehr giftig. sie bewirken Paralyse, Aufhebung der Reflexthätigkeit und Herzstillstand in Systole. Pouchet hält es für wahrscheinlich, dass die im normalen Harn (in den Fäces und in den Excreten überhaupt) vorkommenden alkaloidartigen Körper mit den bei der Fäulniss unter Luftabschluss aus Eiweisskörpern entstehenden identisch oder doch nahe verwandt sind.

2. Selmi[2]) hat aus pathologischen Harnen bereits 1880 eine Anzahl Basen dargestellt.

Die Untersuchungen betrafen je einen Fall von progressiver Paralyse (zweimalige Untersuchung), von infectiöser Pneumonie mit Albuminurie, Icterus rheum. und zwei Fälle von Ileotyphus.

Der Harn wurde mit Baryumhydrat schwach alkalisch gemacht, mit absolutem Alkohol vollständig gefällt und vom schwach alkalischen Filtrat der Alkohol im Kohlensäurestrom abdestillirt. Das Destillat enthielt in 5 Fällen einen neutralen phosphorhaltigen Körper und eine Basis, die als Chlorhydrat dargestellt wurde. Der Destillationsrückstand wurde mit Baryumhydrat alkalisch gemacht, mit Aether ausgeschüttelt und in Lösung gegangene Basis gleichfalls an Salzsäure gebunden.

Keine der gewonnenen Basen stimmte mit einer andern in den Reactionen überein. Bei der gleichen Methode gewonnene Basen waren giftig und nicht giftig. Sie rochen nach Nikotin, Coniin, faulen Fischen oder ammoniakartig; eine derselben nennt Selmi wegen ihres Nikotingeruchs Pseudonikotin. Die Chloride der mit Alkohol flüchtigen Basis krystallisirten zum Theil und waren zum Theil zerfliesslich. Mit Platinchlorid gab eine keinen Niederschlag, die anderen Oktaeder oder Dodekaeder, eine gekreuzte Krystalle. Goldchlorid gab Nichts, oder Trübung, oder Oktaeder, oder gelbe Prismen. Sublimat gab einmal einen weissen amorphen Niederschlag, einmal kurze Prismen. Jodjodwasserstoff lieferte einmal einen ziegelrothen Niederschlag, einmal einen braunen amorphen, sonst braune Plättchen oder Nadeln, einmal stahlgraue Krystalle. Jodwismuthkalium gab mennig- oder zinnoberrothe Niederschläge, einmal Nadeln. Nessler'sches Reagens fällte gelb, Pikrinsäure gab Nichts oder gelbe amorphe und krystallinische Niederschläge, Tannin Trübung. Phosphorwolframsaures Natron fällte nicht.

Die Reactionen der aus dem Destillationsrückstand gewonnenen Base waren nicht minder mannichfaltig als die der anderen. Selmi behauptet nicht, dass jede der aufgefundenen Basen ein chemisches Individuum gewesen sei. Mit Mono-, Di- oder Trimethylamin sowie mit Propylamin waren sie nicht identisch. Er nennt sie Pathoamine.

---

1) A. Gautier, a. a. O. 75.

2) Selmi, Annali di Chim. e di Farmacol. 8. 3. 1888; Chem. Centralblatt 1888. 1554.

3. Mme Eliacheff[1]) bediente sich zum Aufsuchen von Ptomainen im Harn der Dialyse.

Der Harn wurde jeden Tag im Vacuum bei 35—37° auf 0,1 Vol. eingedampft, dann mit einigen Tropfen Blausäure versetzt. Die gewonnenen 4,2 Ltr. eingedampfter Harn wurden 11 Tage lang dialysirt und die Fäulniss durch Zusatz von Blausäure oder Schwefelkohlenstoff zur Innen- und Aussenflüssigkeit hintangehalten. Als Nichts mehr in die Aussenflüssigkeit überging, wurde die Innenflüssigkeit wieder nahe bei Körpertemperatur im Vacuum bis zum Syrup eingeengt und in der Kälte vollends getrocknet. Alle Operationen wurden, mit Ausnahme des Eindampfens, nahe bei 0° vorgenommen, weil sich sonst die Flüssigkeit mit Schimmel bedeckte.

Der nicht dialysirbare Antheil aus normalem Harn wog 5,8 g (138 mg auf das Liter, 193 mg für 24 St.), war glasig, durchscheinend, sehr hart, dunkelbraun mit Perlglanz, sehr hygroskopisch, sehr leicht löslich in Wasser, wenig in Alkohol und in Aether, reagirte deutlich sauer, reducirte in der Kälte Goldchlorid, Platinchlorid, Sublimat, Silbernitrat, gab aber mit Eisenchlorid und Ferricyankalium kein Berlinerblau; Tannin rief einen flockigen, graulich weissen Niederschlag hervor. Die Substanz enthielt nur Spuren Mineralbestandtheile und gab bei der Analyse 60,75 % C, 9,37 H, 10,94 N, 12,54 O, 3,00 P, 3,40 S, woraus Mme Eliacheff die Formel $C_{52}H_{96}N_8O_8PS$ ableitet, oder, mit Weglassung von P und S $C_{13}H_{24}N_2O_2$. Von der Substanz war 0,1 g intravenös für ein Kaninchen nicht tödtlich, aber 0,25 g tödteten ein Kaninchen von 2,2 kg in 18 St. Injection von 0,1 g ist beim Menschen von geringem Unwohlsein (leichtem Kopfschmerz) gefolgt.

In derselben Weise wurde der Harn von 2 fieberfreien Tuberkulösen durch 7 Tage verarbeitet. Der nicht dialysirbare Theil betrug für 24 St. 180 mg. Die Substanz besass dieselben Eigenschaften wie die aus normalem Harn und enthielt, wie diese, gleichfalls P und S. Die Kranken wurden mit Koch'schem Tuberkulin behandelt, worauf Fieber eintrat; der Harn blieb aber eiweissfrei. Der während des Fiebers entleerte Harn lieferte für 24 St. 234 mg nicht dialysirbare Substanz von derselben Beschaffenheit wie die aus normalem Harn; dieselbe bestand aber aus 55,59 % C, 8,26 H, 13,88 N, 15,87 O, 3,00 P, 3,40 S, ohne Berücksichtigung des P u. S = $C_{14}H_{25}N_3O_3$. In der auf die Injectionen folgenden fieberfreien Zeit wurde in 24 St. 143 mg nicht dialysirbares ausgeschieden. Es besass die Eigenschaften und die Zusammensetzung wie das aus normalem Harn. Vor der Injection des Tuberkulins und in den fieberfreien Zeiten nach derselben war die Substanz in demselben Grade giftig, wie die aus normalem Harn, von während des Fiebers abgesonderter Substanz tödtete dagegen 0,1 g ein Kaninchen in 45 Min. unter denselben (asphyktischen) Erscheinungen, wie der Harn selbst. Injection von 0,1 g dieser Substanz bewirkt bei Menschen etwas Fieber, Frösteln, ziemlich stark anhaltende Kopfschmerzen, Steifigkeit, beschleunigten Puls, Appetitlosigkeit.

Allem Anscheine nach bestand diese nicht dialysirbare Substanz vorwiegend aus einem Gemeng von Nucleoalbumin und Chondroalbumin (vgl. die mucinähnliche Substanz §. 43. IV), gehört also nicht zu den gesuchten Ptomainen.

Die zunächst folgenden Untersuchungen des Harns sind in der Weise ausgeführt worden, dass der alkalisch gemachte Harn mit Aether ausgeschüttelt wurde, also nach demselben Princip, nach welchem, nach Stas-Otto, bei Vergiftungsfällen die Alkaloide aufgesucht werden.

---

[1]) Mme P. Eliacheff, Mémoires de la Soc. de Biol. [9] 3. 71. 1891; Centralbl. f. Physiol. 5. 606.

4. Bouchard[1]) wies auf diese Art im normalen Harn einen in Aether und einen zweiten, nicht in Aether, aber in Chloroform löslichen, alkaloidartigen Körper nach.

Der normale Harn (4 l) wurde vor der Behandlung mit den Lösungsmitteln eingedampft. Doch war das (in Aether lösliche) Alkaloid bei der Untersuchung von vier verschiedenen Harnen nur dreimal aufzufinden. Beide Alkaloide sind in sehr grosser Menge auch in frischen Stühlen (bei Gesunden, bei putrider Diarrhoë und bei Typhus) vorhanden. Die im Harn befindlichen verhalten sich gleich denen im Koth in Bezug auf die Löslichkeit. Im Harn tritt um so mehr Alkaloid auf, je mehr davon der Koth in löslicher Form enthält; bei putrider Diarrhoë kommt im Harn 40—50 mal soviel vor, wie normal. Von den im Koth auftretenden Substanzen giebt Bouchard an, dass sie mit Jodquecksilberkalium bald einen in der Wärme unlöslichen Niederschlag geben, bald keinen; durch Jodjodkalium werden sie reichlich gefällt. Die in Aether löslichen geben in der Regel mit Ferricyankalium und Eisenchlorid sofort Blaufärbung, die mit Chloroform extrahirten dagegen nur sehr langsam.

Aus dem mit Natron alkalisch gemachten Harn einer grossen Anzahl Fälle von Typhus, zweier Fälle von infectiöser Pneumonie, je eines Falls von Pleuritis und Icterus, die beide infectiös waren, hat Bouchard[2]) durch Schütteln mit Aether basische Substanz gewonnen, die nach dem Verdunsten des Aethers in verdünnter Schwefelsäure gelöst mit Jodquecksilberkalium einen gelblich oder grünlich weissen, in der Wärme löslichen und beim Erkalten wieder auftretenden, auch in Alkohol und in Aether löslichen Niederschlag gaben, ferner durch Pikrinsäure hellgelb, durch Jodjodkalium braun gefällt wurden und mit Ferricyankalium und Eisenchlorid Berliner Blau bildeten.

5. Lépine und Guérin[3]) gewannen eine Substanz, deren Lösung in Salzsäure sich als giftig erwies. Die Auszüge aus pathologischem Harn waren giftiger als die aus normalem, und der Auszug aus Typhusharn verhielt sich anders als der aus Pneumonieharn.

6. In ähnlicher Weise stellte Villiers[4]) seine Untersuchungen an.

Es wurden 1—2 l Harn nach dem Ansäuern erst in der Wärme, dann im Vacuum verdunstet, der Rückstand mit absolutem Alkohol ausgezogen, das Filtrat im Vacuum verdunstet, der Rückstand in wenig Wasser gelöst, mit kohlensaurem Natron alkalisch gemacht und mit Aether geschüttelt. Dem Aether wurde die in Lösung gegangene alkalische Substanz mit salzsäurehaltigem Wasser entzogen. Die gewonnenen Stoffe gaben dann allgemeine Alkaloidreactionen.

In seinem eigenen Harn fand Villiers 6 mal kein Alkaloid, dagegen 2 mal bei leichtem Unwohlsein. Im Harn von 9 anderen Personen, die sich für gesund hielten, war nur 2 mal Alkaloid nachweisbar. Es fand sich bei verschiedenen Krankheiten (Masern, Diphtherie, Pneumonie, Phthisis, Kopfabscess), die ohne Verabreichung von Alkaloiden behandelt wurden; bei einem Tetanus war es nicht nachweisbar.

7. Von einer gleichfalls in Aether löslichen alkaloidartigen Substanz fand Aducco[5]), dass sie bei Muskelthätigkeit in vermehrter Menge ausgeschieden wurde.

---

1) Ch. Bouchard, Revue de méd. **2**. 825. 1882.
2) Bouchard, Comptes rendus de la Soc. de Biol. [7] **3**. 604. 1882.
3) Lépine u. Guérin, Revue de méd. 1884. 767; Lyon méd. 42. 1884; Virchow-Hirsch's Jahresber. 1884. **1**. 152 u. 212.
4) A. Villiers, Comptes rendus **100**. 1246. 1885.
5) V. Aducco, Arch. de Biol. ital. **9**. 203; Centralbl. f. Physiol. 1888. 291.

Der Harn stammte von Soldaten, welche anstrengende Märsche machten. Wenn der Harn nach der Titrirung mit Natronlauge eine geringere als 0,1% Schwefelsäure entsprechende Menge Säure enthielt, wurde er bis zu diesem Grade mit Weinsäure versetzt, dann, erst bei 35—40°, zuletzt im Vacuum eingedampft, der Rückstand mit reinem Alkohol ausgezogen und die Lösung zur Trockne verdunstet. Der dabei bleibende Rückstand wurde mit Aether gewaschen, mit doppelt kohlensaurem Natron alkalisch gemacht und mit Aether ausgeschüttelt. Die Lösung wurde verdunstet, der Rückstand durch wiederholte Behandlung mit Salzsäure und Aether gereinigt und der Rückstand der alkalischen Aetherlösung mit ein paar Tropfen Salzsäure im Vacuum bis zur Gewichtsconstanz getrocknet. Der Rückstand war nicht krystallinisch. Die freie Basis reagirte stark alkalisch, roch nach frisch gemahlenem Mais oder nach Sperma und gab die gewöhnlichen Alkaloidreactionen; mit Eisenchlorid und Ferricyankalium lieferte sie Berliner Blau. Das schwer lösliche Platinsalz enthielt 31,02% Platin. Nach ihren Reactionen ist die Basis weder Neurin noch Cholin.

Es wurden immer 7—20 l Harn in Arbeit genommen. Im Mittel aus 11 Bestimmungen wurde im Liter 5,28 mg (2,32—9,5) Chlorhydrat gefunden. Während des Marsches enthielt der Harn am Meisten, vor dem Marsch und den Tag nach dem Marsch am Wenigsten.

8. Luff[1]) hat den Harn in einem Fall von Typhus und in mehreren Fällen von Scharlach auf der Höhe des Fiebers nach der unter C. 1. beschriebenen Methode mit Erfolg untersucht; die Kranken erhielten, während der Harn gesammelt wurde, und vorher, keine Alkaloide und keine Antipyretica. Im Harn eines Typhösen vom 22. und 23. Tag mit Temperaturen bis höchstens 37,5° und im Harn Gesunder wurde nichts Derartiges gefunden. Auf die Giftigkeit der Ptomaine wurde nicht untersucht.

Typhus, Harn von vier Tagen bei 39,2—40,0°. Wenig weisse krystallinische Substanz. Die Lösung derselben in sehr verdünnter Salzsäure gab mit Phosphormolybdänsäure einen weissen Niederschlag, mit Phosphorwolframsäure Nichts, Jodquecksilberkalium dichten gelben Niederschlag, Jodlösung braunen Niederschlag, Tannin gelblich braunen Niederschlag, Pikrinsäure dichten gelben Niederschlag, Platinchlorid Nichts, Goldchlorid dichten gelben Niederschlag.

Scharlach, 18 Liter Harn. Ptomain halbkrystallinisch, weiss, in Wasser löslich, schwach alkalisch; die Lösung in sehr verdünnter Salzsäure gab folgende Niederschläge: Phosphormolybdänsäure blass gelblichweiss, Phosphorwolframsäure weiss, Jodquecksilberkalium blass gelblichweiss, Jod braun, Pikrinsäure gelb, Goldchlorid geringer gelber N. Tannin und Platinchlorid fällten nicht.

9. A. B. Griffiths macht über eine ganze Reihe bei verschiedenen Krankheiten im Harn auftretender Alkaloide Angaben. Im normalen Harn kommen sie nicht vor.

Ich kürze ab: Niederschlag = N., Reagens = R., Tannin = T., Pikrinsäure = P., Phosphorwolframsäure = Pwfs., Phosphormolybdänsäure = Pbds. Der Beschreibung der Substanz füge ich sogleich das Citat hinzu, Comptes rendus = C. r.

a. Parotitis. $C_6H_{13}N_3O_2$ (isomer mit Lysatin), weisse Prismen, löslich in Wasser, Aether, Chloroform, neutral, bitter. Das Chlorhydrat und das Chloroplatinat krystallisiren. N. mit Pbds. goldgelb, mit Pwfs. weiss, K_2HgJ_4 hellgelb,

---

1) A. T. Luff, A new method of extracting ptomaines. — Thesis for the degree of M. D. of the University of London 1888; British med. Journal, 1889. II. 193.

T. braun. Beim Kochen mit Quecksilberoxyd entstehen nach einander Kreatin, Methylguanidin und Oxalsäure, wonach die Basis Propylglykocyamin (Propylkreatin) wäre. Sehr giftig, bewirkt bei der Katze Erregung, Stillstand der Speichelsecretion, Krämpfe, Coma und Tod. (C. r. **113**. 656; Chem. News. **61**, 87; Chem. Centralbl. 1890. **1**. 689.)

b. Scharlach. $C_5H_{12}NO_4$, weiss, krystallinisch; löslich in Wasser mit schwach alkalischer Reaction. Chlorhydrat und Chloraurat krystallinisch. Mit Pbds. gelblichweisser N., mit Pwfs. weisser N., mit P. gelber N. Wird auch durch Nessler'sches R. gefällt. Entsteht auch mit reinen Kulturen von Microc. scarlatinae auf Peptongelatine. (C. r. **113**. 656. 1891.)

c. Diphtherie. $C_{14}H_{17}N_2O_6$, weiss, krystallinisch. Bildet Chlorhydrat und Chloraurat. N. mit T. gelb, mit Pbds. weiss, P. gelb, Nessler'sches R. braun. Entsteht auch in Culturen des Bac. diphth. No. 2 von Klebs und Loeffler. (Daselbst.)

d. Masern. $C_3H_5N_3O$ (Glykocyamidin), weisse Täfelchen, mit alkalischer Reaction löslich in Wasser. Chloroplatinat $(C_3H_5N_3O)_2H_2PtCl_6$ mikroskopische Nadeln. Die Verbindung mit Sublimat bildet fast unlösliche prismatische Nadeln. Giebt N. mit P., Pbds. und Pwfs. Sehr giftig, ruft bei der Katze Fieber (40°) und in 36 St. den Tod hervor. (C. r. **114**. 497. 1892.)

e. Keuchhusten. $C_{15}H_{19}NO_2$, weiss, krystallinisch, löslich in Wasser, bildet ein Chlorhydrat und ein Chloraurat. N. mit Pbds. weiss, P. gelb, T. braun. Entsteht auch in Culturen des Keuchhusten-Bacillus von Afanasieff. (Daselbst.)

f. Rotz. $C_{15}H_{10}N_2O_6$, weiss, krystallinisch, löslich in Wasser, alkalisch. Das Chlorhydrat, Chloraurat und Chloroplatinat krystallisiren. Grünlicher N. mit Pwfs., bräunlich weisser mit Pbds., gelber mit P., wird auch durch Nessler'sches R. gefällt. Entsteht auch in Culturen des Bac. mallei. Bewirkt subcutan beim Kaninchen einen Abscess an der Injectionsstelle, specifische Knoten in Lunge und Milz, metastatische Abscesse und den Tod. (C. r. **114**. 1382. 1892.)

g. Pneumonie. $C_{20}H_{26}N_2O_3$, weisse Nadeln, in Wasser löslich, alkalisch, bildet ein Chlorhydrat, Chloraurat, Chloroplatinat. Weisser N. mit Pwfs., gelblich weisser mit Pbds., bräunlicher mit Nessler'schem R., gelber etwas löslicher mit P. Dreht rechts, $[\alpha]_D = 23{,}5^0$. (Daselbst.)

h. Epilepsie. $C_{10}H_{15}N_5O_7$, weisse schiefe Prismen, löslich in Wasser, alkalisch. Das Chlorhydrat und das Chloraurat krystallisiren. N. mit $HgCl_2$ grünlich weiss, $AgNO_3$ gelblich, Pwfs. weiss, Pbds. bräunlich weiss, T. gelb. Verursacht Zittern, Stuhl- und Harndrang, Erweiterung der Pupillen, Krämpfe, Tod. (C. r. **115**. 185. 1892.)

i. Erysipel. $C_{11}H_{13}NO_3$, orthorombische Platten, löslich in Wasser, schwach alkalisch. $HgCl_2$ giebt weissen N., $ZnCl_2$ körnigen in der Wärme unter Zersetzung löslichen N., Nessler'sches R. grünen N., P. gelben etwas löslichen N., Goldchlorid gelben in Wasser löslichen N. Das Chloroplatinat $(C_{11}H_{13}NO_3)_2H_2PtCl_6$ bildet prismatische Nadeln. Wird auch gefällt durch Pwfs., Pbds., T. Sehr giftig, erregt Fieber und tödtet in 18 St. (C. r. **115**. 667. 1892; Bull. de la Soc. chim. [3] **7**. 250.)

k. Kindbettfieber. $C_{22}H_{19}NO_2$, weiss, krystallinisch, löslich in Wasser, alkalisch. Das Chlorhydrat und das Chloraurat krystallisiren. Mit T. rothen N., P. gelb, Pbds. bräunlich weiss, wird durch Nessler'sches P. gefällt. Sehr giftig, tödtet einen Hund in 12 St. (C. r. **115**. 668.)

l. Ekzem. $C_7H_{15}NO$, weiss, krystallinisch, löslich in Wasser, alkalisch; Chlorhydrat, Chloraurat, Chloroplatinat krystallisiren. Pwfs. bräunlicher N., Pbds. gelblich, P. gelb, $AgNO_3$ gelblich, $HgCl_2$ grünlich; auch Nessler'sches R. fällt. Lösung in sterilisirtem Wasser verursacht subcutan beim Kaninchen Entzündung an den Einstichstellen, starkes Fieber, Tod. (C. r. **116**. 1205. 1893.)

m. Influenza. $C_9H_9NO_4$, weisse prismatische Nadeln, schwach alkalisch; Chlorhydrat, Chloroplatinat und Chloraurat krystallisiren. Pwfs. bräunlicher N., Pbds. gelblich, P. gelb, T. roth, $HgCl_2$ weiss, Nessler'sches R. braun, $ZnCl_2$ fällt nicht. Verursacht starkes Fieber, Tod in 8 St. Verschieden von dem Pneumonie-Ptomain. (Griffiths u. R. S. Ladell, C. r. **117**. 744. 1893.

n. Carcinoma uteri. $C_8H_5NO_5$, weisse mikroskopische Nadeln, löslich in Wasser, alkalisch. Giebt ein Chlorhydrat, Chloroplatinat, Chloraurat. Pwfs. gelben N., Pbds. bräunlich, $AgNO_3$ roth, $HgCl_2$ grau, Nessler'sches R. bräunlich. Verursacht Fieber und in 3 St. den Tod. (C. r. **118**. 1350. 1894.)

o. Pleuritis. $C_5H_5O_2$, aus Chloroform farblose zweiaxige rechtwinklige Tafeln, scheidet sich aus heissem Wasser in federförmigen Aggregaten von schwachem hagedornartigen Geruch aus, wird durch Salzsäure bei langem Stehen als weisses krystallinisches Chlorhydrat gefällt, giebt mit Nessler'schem R. hellgelben N., der bei längerem Stehen bräunlich wird, während sich die Lösung fleischroth färbt; in der Wärme löst sich der N. farblos. Ferrocyankalium in der Kälte keinen N., nach dem Erwärmen weisser oder hellgelber N., der bei längerem Stehen grünlich wird. Eisenchlorid weisser N., K_2CdJ_4 rother N., K_3BiJ_6 grüner, Phosphorantimonsäure bläulicher, Pwfs. krystallinischer weisser N. Giftig. (Chem. News **70**. 109; Chem. Centralbl. 1894. **2**. 1000.)

p. Angina pectoris. $C_{10}H_9NO_4$, weiss, krystallinisch, löslich in Wasser, schwach alkalisch. Chlorhydrat, Chloroplatinat, Chloraurat krystallinisch. Pwfs. gelblicher N., Pbds. gelb, T. roth, $AgNO_3$ grünlich, $HgCl_2$ grünlich, Nessler's R. braun. Fieber und Tod in 2 St. (Griffiths u. C. Massey, C. r. **120**. 1128. 1895.)

10. Chiaruttini[1]) hat in 12 Fällen von Epilepsie, Hysterie, Chorea und ähnlichen Nervenkrankheiten den Harn nach Zusatz von Weinsäure eingedampft, darauf mit Ammoniak oder Natriumcarbonat alkalisch gemacht und mit Aether extrahirt. Er giebt an, in allen Fällen Alkaloide gefunden zu haben, welche bei Thieren oft ähnliche Zustände hervorriefen, wie bei den Kranken, von denen der Harn stammte. Grössere Dosen tödteten unter Krämpfen.

11. Boinet und Silberet[2]) haben bei Morbus Basedowii drei Ptomaine gewonnen, welche bei Thieren ähnliche Erscheinungen verursachten, wie sie bei den Kranken selbst bisweilen gefunden werden.

12. Nencki[3]) hat die Angaben von Griffiths über das Vorkommen von Ptomainen in pathologischen Harnen für Typhus und Rotz nicht bestätigen können. Auch hat Kressling auf Veranlassung von Nencki 10 Liter Bouilloncultur von Rotz nach der Vorschrift von Griffiths verarbeitet, ohne dass es ihm gelang, eine wägbare Menge Ptomain aufzufinden.

13. Die Untersuchungen von Albu[4]) bringen dagegen wieder eine theilweise Bestätigung der Angaben von Griffiths.

Albu hat den Harn untersucht theils nach dem ursprünglichen Verfahren von Stas und Otto, theils nach dem kürzeren von Griffiths. Er fand Alkaloide bei Scharlach, Masern, Pneumonie, Diphtherie, Phthisis mit hektischem Fieber, Sepsis bei Uteruscarcinom, Erysipel, Morbus Basedowii, Tetanie, perniciöser Anämie, Autointoxication mit Urticaria nach acutem Magencatarrh, Coma diabeticum, wenn auch nicht in allen Fällen, wo mehrere zur Untersuchung

---

[1]) E. Chiaruttini, La Riforma med. 133—135. 1893; Jahresb. f. Thierch. 1893. 548.
[2]) Boinet u. Silberet, Revue de méd. 1892; Jahresb. f. Thierch. 1892. 495.
[3]) M. Nencki, Jahresb. f. Thierch. 1893. 601.
[4]) A. Albu, Berliner klin. Wochensch. **31**. 8. u. 1081. 1894.

kamen. Keine oder wenigstens keine krystallinische Substanz wurde gefunden bei Gesunden, Typhus abdominalis, puerperaler Sepsis, acutem Gelenkrheumatismus, Urämie, Cholera, Eklampsie, Magencarcinom, Crises gastriques bei Tabes, Morbus Addisonii, Erythema nodosum. Auch aus dem Harn eines Hundes, der wochenlang auf Fleischkost gesetzt worden war, konnte kein Alkaloid gewonnen werden. Es bleibt dahin gestellt, ob der Misserfolg etwa dadurch zu Stande kam, dass zu wenig Harn verarbeitet wurde.

In den positiven Fällen war das erhaltene Produkt meist sogleich rein oder durch Umkrystallisiren leicht rein zu erhalten. Die Ausbeute war immer gering und reichte niemals für eine Elementaranalyse aus. Die physikalischen und chemischen Eigenschaften waren im Allgemeinen die von Griffiths angegebenen, aber bei Scharlach und Masern stimmten sie nicht immer mit dem Befund von Griffiths und die einzelnen von Albu bei derselben Krankheit (Masern, Scharlach und Pneumonie) dargestellten Substanzen waren unter einander verschieden.

In mehreren Fällen konnten die Alkaloide in der Form von Chloroplatinaten und Chlorauraten gewonnen werden; meist brachten aber Goldchlorid, Platinchlorid, sowie auch Pikrinsäure nur wolkige Trübungen hervor, keine krystallinischen Niederschläge. Am Constantesten traten Niederschläge mit Phosphorwolframsäure und Phosphormolybdänsäure auf, nächst diesen am Häufigsten der mit Jodquecksilberkalium. Oft gelang auch die Probe mit Eisenchlorid und Ferricyankalium (Bildung von Berlinerblau).

Albu theilt folgende Einzelbefunde mit.

a. Scharlach. Aus 4,25 l Harn (von 2 Fällen) 15,4 mg Substanz, nach dem Umkrystallisiren aus Alkohol Büschel langer spitzer Nadeln, alkalisch, leicht löslich in Wasser, schwer in Aether. Schmelzpunkt 133^0. Phosphorwolframsäure gab einen reichlichen, flockigen, Phosphormolybdänsäure einen spärlichen Niederschlag, beide in der Wärme löslich, beim Erkalten wieder auftretend. Tannin, K_2HgJ_4 und K_3BiJ_6 gaben reichliche Niederschläge, Pikrinsäure Trübung, Goldchlorid nur einen sehr feinen wolkigen Niederschlag. 6 mg tödteten eine weisse Maus in 3 Stunden unter heftiger Athemnoth und Krämpfen.

b. Schwere Diphtherie. Aus 3,5 l Harn (3 Fälle) 29 mg Substanz. Weisse rechtwinkelige Tafeln, stark alkalisch, geruchlos, luftbeständig, leicht löslich in Wasser, wenig in Aether. Schmelzpunkt 121—122^0. Phosphorwolframsäure gab einen weissen, im Ueberschuss löslichen Niederschlag, Phosphormolybdänsäure einen gelben, Tannin einen dicken graubraunen, „Wismuth-Quecksilberjodid" einen dichten rubinrothen Niederschlag. Die übrigen Alkaloidreagentien riefen weder Niederschlag noch Trübung hervor. 10 mg in Wasser subcutan tödteten eine weisse Maus augenblicklich.

c. Pneumonie. Aus 8 l Harn (1 Fall) 36 mg, weisse viereckige Tafeln, stark alkalisch, leicht löslich in Wasser, Aether, Alkohol, luft- und lichtbeständig, geruchlos. Die Substanz sintert bei 126^0. Phosphorwolframsäure weissgrauer amorpher Niederschlag, Phosphormolybdänsäure dicker gelber wolkiger Niederschlag, Tannin leichter wolkiger grauer Niederschlag, „Wismuthquecksilberjodid" dicker amorpher rothbrauner Niederschlag, Platinchlorid reicher wolkiger Niederschlag. 10 mg tödten eine weisse Maus, 20 mg machen bei einem Kaninchen keine Erscheinungen.

d. Schweres Gesichtserysipel. 6,5 l Harn, 24,7 mg röthlich weisse krystallinische, durch eine geringe amorphe Beimengung verunreinigte Substanz, alkalisch. Phosphormolybdänsäure, Tannin, „Wismuthquecksilberjodid" geben amorphe flockige Niederschläge, Platinchlorid Trübung, Goldchlorid Nichts. Thierversuch negativ.

In einigen Fällen fand zur Aufsuchung von Alkaloiden im Harn das Verfahren von Brieger, und zwar mit Erfolg, Anwendung.

14. Albu, sowie Ewald und Jacobson[1]) untersuchten einen und denselben Fall von Tetanie. Albu stellte aus Harn, der während der Anfälle entleert wurde, über 0,5 gr einer weissen Substanz dar, welche fast sämmtliche Alkaloidreactionen gab, auch schöne Gold- und Platinsalze, aber, da sie nicht rein war, nur 0,164 gr reines Chloroplatinat. Die von Ewald und Jacobson gewonnene Substanz lieferte ein in langen Nadeln krystallisirendes Pikrat, war aber nicht giftig.

15. Ewald und Jacobson haben nach demselben Verfahren weiter untersucht den Harn in 3 Fällen von Magencarcinom (2 mal mit Erfolg), 1 Fall von urämischem Coma und 1 Fall von Morbus Addisonii mit Erfolg. Ein negatives Resultat ergab sich in je 1 Fall von Bauchfelltuberkulose, traumatischer Neurose und multipler Neuritis. Es wurden von den Alkaloiden die Pikrate in grossen Nadeln erhalten, in 2 Fällen auch Platinsalze (kein Salmiak!). Die Ausbeute war gering. Der Morbus Adisonii ergab über 1 gr Pikrat. Bei der Analyse desselben wurde gefunden: 32,59⁰/₀ C, 2,78 H, 13,28 N, 51,35 O, woraus Ewald und Jacobson für die Basis die Formel $C_5H_7NO_6$ ableiten. Für das Pikrat $C_5H_7NO_6 . C_6H_2(NO_2)_3 . OH$ berechnen sich 32,41⁰/₀ C, 2,46 H, 13,90 N, 51,23 O.

16. Kijanitzin[2]) hat aus dem Harn von Kaninchen und Hunden, denen die Haut in grösserer Ausdehnung verbrannt worden war, nach dem Verfahren von Brieger eine Substanz mit ähnlichen chemischen Eigenschaften und von derselben Giftwirkung wie das Peptotoxin dargestellt.

Die Substanz war amorph, gelblich oder gelbbraun, roch sehr scharf und unangenehm, löste sich leicht in Wasser und in Spiritus, schwer in Benzin und in Chloroform, nicht in Aether. Jodjodkalium und Jodjodwasserstoff gaben sehr reichliche rothbraune Niederschläge, Phosphorwolframsäure, Phosphormolybdänsäure und Meyer's Reagens reichliche weisse Niederschläge, Millon's Reagens einen weissen, an der Luft roth werdenden Niederschlag, Kaliumwismuthjodid einen unbedeutenden orangefarbenen Niederschlag, Tannin einen kaffeebraunen, Sublimat einen weissen, Platin- und Goldchlorid unbedeutende gelbliche Niederschläge, Ferricyankalium und Eisenchlorid Berlinerblau.

17. Ueber die Erfolge, welche die Behandlung des Harns mit Benzoylchlorid und Natronlauge hat, liegen Angaben von Kerry und Kobler[3]) vor.

Sie untersuchten Harn bei Typhus, Diphtherie, Pyämie, Tuberkulose und Pneumonie. Wurde die klare Lösung des gewaschenen Niederschlags in Alkohol mit Wasser stark verdünnt, so entstand in allen Fällen, besonders aber zur Zeit des Fieberabfalls, eine zumeist sehr dichte, gelbe bis rothgelbe Trübung, aus der sich häufig ein krystallinischer Niederschlag absetzte. Harn von Gesunden oder von Kranken, die an einer anderen als einer Infektionskrankheit leiden oder Harn von Infectionskranken nach der Entfieberung zeigen dagegen nur eine leichte Trübung, gewöhnlich nur eine geringe Opalescenz. Ein aus der Benzoylverbindung abgespaltener basischer Körper zeigte Alkaloidreactionen; die Benzoylverbindung enthielt Stickstoff, war aber nach dem Schmelzpunkt kein Benzamid. Die Menge des basischen Körpers (aus ungefähr 1 Liter Harn) war sehr gering. Er rief schon in kleinen Mengen Vergiftungserscheinungen hervor, beim Frosch in kurzer Zeit den Tod.

18. Hierher zu rechnen sind noch die Diamine § 29.

---

[1]) Albu, a. a. O. 1082. — C. A. Ewald u. J. Jacobson, Berliner klinische Wochenschr. **31**. 25. 1894.
[2]) F. Kijanitzin, Virchow's Archiv **131**. 443. 1893.
[3]) R. Kerry u. G. Kobler, Wiener klin. Wochenschr. 1891. 525.

C. *Darstellung und Nachweis.*

1. Verfahren von Luff und von Griffiths[1]). Dasselbe ist das Verfahren von Stas und Otto zur Ausmittelung der Alkaloide in vereinfachter Form. Luff hat es angegeben und Griffiths befolgt.

Eine grosse Menge Harn wird mit kohlensaurem Natron alkalisch gemacht und mit dem halben Volumen Aether ausgeschüttelt; nachdem sich der Harn abgesetzt hat, wird der Aether filtrirt, und das Filtrat mit einer Lösung von Weinsäure geschüttelt, welche das Alkaloid aufnimmt. Nach dem Verdampfen des Aethers aus der wässrigen Lösung wird diese mit Natriumcarbonat übersättigt, wieder mit dem halben Volumen Aether geschüttelt, der von der übrigen Flüssigkeit getrennte Aether der freiwilligen Verdunstung überlassen und der Rückstand über Schwefelsäure getrocknet. Man erhält nach Albu die Basen entweder sogleich oder durch Umkrystallisiren aus Alkohol rein.

Aussicht auf Erfolg hat man nach Albu nur dann, wenn der erste Harn nach dem Einsetzen der Krankheit verwendet wird. Nach Albu sind mindestens 8—10 Liter Harn in Arbeit zu nehmen, um einigermaassen ansehnliche Mengen Substanz zu erhalten. In einigen Fällen hat Albu den Harn vor der Behandlung mit Aether auf etwa $^1/_8$ eingedampft und dasselbe Resultat erhalten wie mit dem nativen Harn. Mehrfache Extraction des Harns mit Aether ist überflüssig. Chiarutti hat den Harn nach dem Vorgang von Spica nach Zusatz von Weinsäure eingedampft, dann mit Ammoniak oder Natriumcarbonat alkalisch gemacht und mit Aether behandelt.

Bei der Darstellung der schwer löslichen Substanz bei Pleuritis (B. 9. o.) hat Griffiths den Verdunstungsrückstand des zweiten ätherischen Auszugs auf dem Wasserbad mit Aetzkalk eingedampft und den Rückstand mit Chloroform ausgezogen. Der zur Extraction verwendete Aether muss absolut rein sein, er darf bei spontaner Verdunstung einer grössern Menge (0,5 Liter) keinen Rückstand hinterlassen, welcher Alkaloidreactionen giebt. Vaughan und Novy[2]) fanden so in Aether Pyridin.

2. Verfahren nach Brieger[3]). Der Harn (10—20 Liter) wird nach Zusatz von Salzsäure zum Syrup eingedampft, der Rückstand mit Alkohol ausgezogen und die Lösung mit alkoholischer Quecksilberchloridlösung gefällt. Der Niederschlag wird mit viel Wasser ausgekocht, wobei Eiweiss und Pepton ungelöst bleiben, die Quecksilberverbindungen der Ptomaine aber in Lösung gehen. Sind schwer lösliche solcher Verbindungen zugegen, so können sie beim Erkalten auskrystallisiren. Durch Behandeln der Flüssigkeit mit Schwefelwasserstoff und Eindampfen des Filtrats erhält man die Basen als Chlorhydrate.

---

1) Luff a. a. O. — A. B. Griffiths, Comptes rendus **113**. 656.

2) V. C. Vaughan und F. G. Novy, Ptomaines, Leucomaines etc. 3. ed. Philadelphia and New-York, 1896. 264.

3) L. Brieger, weitere Untersuchungen über Ptomaine. Berlin 1885. 52. — Ewald u. Jacobson, a. a. O.

3. Als Benzoylverbindungen erhält man die Ptomaine nach dem Verfahren, welches von Udránszky und Baumann zur Darstellung der Diamine verwendeten (§ 29. S. 265).

Die isolirten Ptomaine sind dann durch die Alkaloidreactionen, die Beschaffenheit der Basis selbst und ihrer Salze, ihr physiologisches Verhalten und womöglich durch die Analyse näher zu charakterisiren.

IV. Eiweisskörper, Farbstoffe, Enzyme.

§ 43. Eiweisskörper.

In der Beschreibung der Eiweisskörper ist selbstverständlich nur auf solche Rücksicht genommen, die im Harn vorkommen; auf andere nur dann, wenn sie zum Verständniss der Thatsachen von Bedeutung sind.

Im normalen Harn, auch in solchem, welcher die sehr empfindliche Heller'sche Eiweissprobe nicht giebt, sind immer Spuren Eiweiss, vorwiegend Serumalbumin enthalten. Unter pathologischen Verhältnissen können von Eiweisskörpern im Harn auftreten: Serumalbumin, Serum- (oder Para-) globulin, Albumosen, Pepton, Hämoglobin, Methämoglobin, Fibrin, wahrscheinlich auch Fibrinogen. Es kommt entweder der eine oder der andere für sich allein vor, oder es finden sich mehrere neben einander (Albumin oder Globulin, Albumin, Globulin und Hämoglobin).

Darüber, dass im normalen Harn Spuren eines Eiweisskörpers vorkommen, bestand kein Zweifel. Nach Senator giebt der Harn Gesunder oft Eiweissreactionen. Posner schied durch Alkohol oder Tannin, Plósz durch Schütteln mit Aether, Chloroform, Amylalkohol Substanzen ab, welche Eiweissreactionen geben, und die Erfahrungen von Posner haben in denen von v. Noorden, Duden, Leube Bestätigung gefunden. Mit seinem Reagens (I. C. 3. r. *a.*) hat Spiegler bei Gesunden ausserordentlich oft geringe Spuren Eiweiss im Harn angetroffen. Es war aber fraglich, um welchen Eiweisskörper es sich handle, und da sich jeder Harn mit Essigsäure trübt, so lag Grund für die Vermuthung vor, dass die beobachtete Eiweissreaction von der mucinähnlichen Substanz herrühre. Die Frage ist durch K. A. H. Mörner[1]) in bejahendem Sinne entschieden worden.

Nach ihm enthält der Harn, auch solcher, welcher nach dem negativen Ausfall der Heller'schen Probe als eiweissfrei im gewöhnlichen Sinne anzusehen ist, neben Eiweiss (Albumin) eiweissfällende Säuren (Chondroitinschwefelsäure, Nucleïnsäure, unter Umständen auch Taurocholsäure), die in Verbindung mit dem Eiweiss auf Zusatz von Essigsäure aus dem Harn ausfallen, namentlich leicht aus dem durch Dialyse von den meisten Salzen befreiten Harn (vgl. die mucinähnliche Substanz, dieser § IV.).

Die Menge des in dem vermeintlich eiweissfreien Harn vorkommenden Eiweisses lässt sich nach Mörner's Bestimmungen auf 36 mg (22—78 mg) im Liter schätzen. Der Harn enthält aber an eiweissfällenden Säuren soviel, dass sie gut die doppelte Menge

---

[1]) C. Posner, Berliner klin. Wochenschr. 1885. 654; Virchow's Archiv **104**. 497. 1886; du Bois' Archiv 1887. 495. — P. Plósz, Orvosi hetilap 1890. 504; Jahresb. f. Thierch. 1890. 215. — v. Noorden, Berliner klin. Wochenschr. 1890. 215. — Duden, Centralbl. f. d. med. Wiss. 1887. 238. — W. Leube, Ztschr. f. klin. Med. **13**. 1. — E. Spiegler, Wiener med. Blätter **38**. 1894. — K. A. H. Mörner, Skand. Archiv **6**, 408. 1895.

Eiweiss niederschlagen können, wie das in der That geschieht, wenn bei sonst gesunden Personen (Kindern, jungen Männern) noch unter physiologischen Verhältnissen Eiweiss in grösserer Menge ausgeschieden wird (transitorische Albuminurie).

Allgemeine Eigenschaften und Reactionen.

A. Löslichkeitsverhältnisse.

a. In Wasser löslich sind Albumin, Hämoglobin, Methämoglobin, Protalbumose, Deuteroalbumose (Pepton).

b. Von den in Wasser unlöslichen Eiweisskörpern lösen sich in (schwachen) Neutralsalzlösungen (den neutral reagirenden Salzen der Alkalien und alkalischen Erden, wie Chlornatrium, Magnesiumsulphat etc.) Globulin, die mucinähnliche Substanz und Heteroalbumose, das Fibrin dagegen nicht.

Auch die in Wasser löslichen Eiweisssubstanzen lösen sich in schwachen Salzlösungen. — Dem rohen Blutfibrin kann durch Salzwasser beigemengtes Globulin entzogen werden.

c. Die in Wasser unlöslichen Eiweisskörper, mit Ausnahme des Fibrins, lösen sich (wie das im Harn nicht vorkommende Protein) auch in Säuren und in Alkalihydraten, sowie in den alkalisch reagirenden Salzen (kohlensauren und phosphorsauren Alkalien), indem sie mit den Säuren sowohl als mit den Basen lösliche Salze bilden. Typisch für diese Salze sind die des Proteins, von welchen das Salz mit Basis, in welchem das Protein Säure ist, Albuminat, das Salz mit Säure, in welchem Protein Basis ist, Acidalbumin heisst. Vom Albuminat bestehen wenigstens zwei Verbindungen, eine neutrale und eine saure. Das Acidalbumin reagirt auf Lackmus sauer, das neutrale Albuminat neutral, das saure sauer. Entzieht man einem solchen in Lösung befindlichen Salz die Basis oder die Säure durch Zusatz einer anderen Säure (auch zweifach saures Phosphat) oder Basis (Alkali- oder Erdalkalihydrat, Alkalicarbonat, einfach saures oder normales Phosphat) geradeauf, so fällt der Eiweisskörper wieder aus, soweit er nicht von dem entstandenen Salz in Lösung erhalten wird.

Alkohol fällt die Eiweisskörper aus ihren Lösungen.

Die mucinähnliche Substanz löst sich sehr schwer in Essigsäure, leicht in Mineralsäuren. — Durch Einwirkung der Säuren, der Alkalihydrate und der alkalisch reagirenden Salze werden das Globulin sowie das Albumin mehr oder minder leicht in Protein übergeführt, das Hämoglobin (und Methämoglobin) zu Proteïn und Hämatin zersetzt.

Wie Ramsden[1]) gezeigt hat, werden Eiweisskörper (Serumalbumin, Serumglobulin, krystallisirtes Eieralbumin, Casein) durch bloses Schütteln ihrer Lösungen.

---

[1]) W. Ramsden, du Bois' Archiv 1894. 517; vgl. Ostwald, Ztschr. f. physik. Ch. **15**. 704.

auch unter Ausschluss von Luft, in unlöslicher Form abgeschieden, wenn die Lösung nicht zu stark alkalisch oder zu salzhaltig ist. Auf diese Weise konnten bis 96.4% des in Lösung befindlichen Eiweisses abgeschieden werden.

Schüttelt man normalen Harn mit Aether, Chloroform, Amylalkohol, so tritt nach Plóss ein aus mucinähnlicher Substanz bestehender Niederschlag auf. — Nach Boymond[1]) bewirkt Schütteln des eiweisshaltigen Harns mit vermeintlich indifferenten Stoffen (Talk, Thierkohle, Kalkcarbonat, Kalkphosphat, gebrannte Magnesia, Magnesiacarbonat, Wismuthsubnitrat) einen Niederschlag von Eiweiss. Das Wismuthsalz fällt so Albumin und Globulin vollständig.

B. Optische Activität. Die Eiweisskörper drehen die Ebene des polarisirten Lichts nach links.

C. Coagulation. Von den im Harn vorkommenden Eiweisskörpern geben beim Erhitzen ihrer Lösungen Niederschläge: Albumin (bei schwach saurer Reaction der Lösung), Hämoglobin, Globulin in Neutralsalzlösung, desgleichen Nucleoalbumin (nur auf Zusatz von Essigsäure), Heteroalbumose in Kochsalzlösung, Protalbumose bei Gegenwart von Kochsalz; auch Calcium- und Magnesiumalbuminat fällt beim Kochen aus. Die Coagulation erfolgt schon unterhalb der Siedehitze, aber nicht bei allen bei derselben Temperatur.

Die Coagulationstemperatur ist nicht nur abhängig von der Art der Eiweisssubstanz, sondern auch von den begleitenden Umständen: der Reaction der Flüssigkeit, dem Salzgehalt und der Concentration der Eiweisslösung. Eine Vermehrung des Salzgehalts erhöht meist die Coagulationstemperatur des Albumins und setzt die der Globuline herab. Eieralbumin wird nach Lewith[2]) unlöslich bei einem Wassergehalt der Lösung von 25% bei 74—80°, mit 18% Wasser bei 80—90°, mit 6% bei 145° und wasserfrei bei 160—170°.

Erwärmt man eine coagulationsfähige Eiweisslösung, so tritt schon unter der Coagulationstemperatur milchige Trübung ein, worauf dann in höherer Temperatur schnell Abscheidung von Flocken erfolgt. Hält man die Temperatur auf der niederen Höhe constant, so verwandelt sich die milchige Trübung gleichfalls in Flocken. Sind diese Flocken nur kurze Zeit erwärmt worden, so lösen sie sich (bei Albumin) nach Corin und Ansiaux[3]) beim Abkühlen und Schütteln wieder auf, nach längerem Erwärmen aber erst, nachdem sie durch Filtriren von der Mutterlauge getrennt worden sind.

Eiweiss, sowie Serumalbumin büssen auf Zusatz von Formaldehyd zu ihren Lösungen nach Blum[4]) die Coagulirbarkeit durch Hitze (und Alkohol, aber nicht die Fällbarkeit durch Alkohol) unter Bewahrung ihrer übrigen chemischen Eigenschaften ein.

D. Verhalten zu Salzen. Ammonsulphat fällt, wenn die Eiweisslösung mit ihm gesättigt wird, alle Eiweisskörper (Méhu, Michailow, Heynsius), auch das Protein (Krüger), wohl auch das Nucleoalbumin, mit Ausnahme aber des (Kühne'schen) Peptons

---

1) P. Plóss a. a. O. — Boymond, Journ. de Pharm. et de Chimie [5] **20**. 481; Chem. Centralbl. 1890. 1. 299.

2) S. Lewith, Arch. f. exp. Pathol. **26**. 351. 1890.

3) J. Corin u. Ansiaux, Bull. de l'Acad. roy. de Bruxelles [3] **21**. 345; Centralbl. f. Physiol. **5**. 826; Chem. Centralbl. 1892. **1**. 672.

4) F. Blum, Zeitschr. f. physiol. Ch. **22**. 127. 1896.

(Wenz, Kühne) und der aus Protalbumose hervorgegangenen Deuteroalbumose (Neumeister); das (Kühne'sche) Pepton wird gar nicht gefällt, die erwähnte Modification der Deuteroalbumose nicht vollständig. Auch das Zinksulphat fällt nach Bömer[1]) beim Sättigen der Lösungen mit demselben Eiweiss und Albumosen.

Albumin und Serumglobulin werden ausserdem vollständig gefällt durch Sättigen ihrer Lösungen mit Ammonsulphit und mit saurem Natriumsulphat (Heynsius), Magnesium-Natriumsulphat $MgSO_4$, Na_2SO_4, 6 H_2O, Kaliumphosphat, Kaliumcarbonat, (Halliburton), Kaliumacetat (Halliburton, Lewith[2]).

Serumglobulin allein wird vollständig gefällt durch Sättigen mit Magnesiumsulphat (Hammarsten), durch halbe Sättigung mit Ammonsulphat (Kauder[3]), durch Sättigen mit Natriumnitrat, Natriumacetat, Natriumcarbonat (Halliburton). Chlornatrium fällt das Globulin aus serösen Flüssigkeiten unvollständig (Hammarsten, Halliburton).

Das Fibrinogen wird zum Unterschied vom Serumglobulin schon durch Sättigen seiner Lösung mit Kochsalz vollständig gefällt.

Das Albumin wird aus den mit Magnesiumsulphat gesättigten serösen Flüssigkeiten vollständig, und zwar als Albumin gefällt, durch Zusatz von mit Magnesiumsulphat gesättigter verdünnter Schwefelsäure oder mit Bittersalz gesättigter Lösung von zweifach saurem Kaliumphosphat (Hofmeister) oder von 0,5—1 $^0/_0$ Essigsäure (Johansson[4]).

Ferner wird es aus der mit Magnesiumsulphat gesättigten Lösung niedergeschlagen durch Sättigen mit Natriumsulphat bei 30° (Starke[5]), wie durch direktes Sättigen mit Magnesium-Natriumsulphat, mit Kaliumcarbonat, Natriumnitrat Kaliumacetat, Jodkalium, Ammonalaun. Der mit Alaun erzeugte Niederschlag wird bald unlöslich (Halliburton). — Die Fällung des Albumins beginnt nach Kauder wenn in 10 cc der Lösung 6,4 cc gesättigte Ammonsulphatlösung enthalten sind und ist beendet bei Gegenwart von 9 cc der gesättigten Salzlösung in 10 cc Mischung.

Dass Albumin aus einer Magnesiumsulphat enthaltenden Lösung durch wenig verdünnte Salzsäure gefällt werden kann, ist schon von Denis[6]) wahrgenommen worden.

Nach Ott's[7]) Untersuchung über das Verhalten des zweifach sauren Phosphats zu einer mit Magnesiumsulphat gesättigten Albuminlösung bleibt in der Kälte noch alles Albumin in Lösung, wenn sie neben zweifach saurem Phosphat

---

1) A. Bömer, Ztschr. f. analyt. Ch. **34**. 562. 1895.

2) Heynsius, Pflüger's Archiv **34**. 132. 1884. — W. D. Halliburton, Journ. of Physiol. **5**. 172. 1884. S. Lewith, Arch. f. exper. Pathologie **24**. 1. 1887.

3) Hammarsten, Pflüger's Archiv **17**. 453. 1878. — G. Kauder, Archiv f. exp. Pathol. **20**. 411. 1886.

4) F. Hofmeister, Ztschr. f. anal. Ch. **20**. 319. — J. E. Johansson, Ztschr. f. physiol. Ch. **9**. 317. 1885.

5) K. V. Starke, Jahresber. f. Thierchemie 1881. 17.

6) P. S. Denis, Mémoire sur le sang. Paris 1859. 39.

7) Ad. Ott, Prager med. Wochenschr. 1884. 153.

das gleiche Mol. einfach saures Phosphat enthält; überwiegt das zweifach saure Phosphat, so wird Albumin abgeschieden, ein eigentlicher Niederschlag tritt aber erst dann ein, wenn 0,9 der gesammten Phosphorsäure als zweifach saures Phosphat zugegen ist. Enthält die Mischung blos zweifach saures Phosphat, so ist der Niederschlag noch stärker.

Wird eine solche Mischung mehrere Stunden auf 40° erwärmt, so tritt schon schwache flockige Fällung ein, wenn sie 1 Mol. zweifach saures Phosphat auf 2 Mol. einfach saures Phosphat enthält und mit der Zunahme des zweifach sauren Phosphats wird dieser Niederschlag immer stärker.

Die mucinähnliche Substanz des Harns wird, wie es scheint, durch Magnesiumsulphat vollständig, durch Kochsalz unvollständig gefällt.

Heteroalbumose wird durch Sättigen ihrer Lösung mit Chlornatrium fast vollständig gefällt, die Protalbumose (auch durch Magnesiumsulphat, ferner durch Glaubersalz und Kochsalz zusammen) sehr unvollständig (etwa zur Hälfte), Deuteroalbumose und Pepton dagegen nicht.

Die Sättigung mit Salz und die dadurch bewirkte Fällung der Eiweisskörper wird nicht mit jedem der für diesen Zweck geeigneten Salze gleich schnell erreicht. Halliburton nahm die Sättigung bei Zimmertemperatur mit Hülfe einer Schüttelmaschine vor. Mit Magnesiumsulphat war z. B. die Sättigung von Serum in 3 Stunden erreicht, mit Natriumacetat erst in 4—6, mit Natriumnitrat in 8—10 Stunden.

100 Theile Wasser lösen bei 20° 76,3, bei 30° 79,0 Theile $(H_4N)_2SO_4$; bei 20° 161,5 Theile, bei 30° 191,0 Theile $ZnSO_4 . 7 H_2O$; bei 20—30° 36 Theile $NaCl$; von der krystallisirten schwefelsauren Magnesia $MgSO_4 . 7 H_2O$ geben 120—130 g mit 100 cc Wasser eine bei 20—25° gesättigte Lösung.

Salze der schweren Metalle fällen die meisten Eiweisskörper; die Niederschläge können sich in der Eiweisslösung sowie im überschüssigen Reagens wieder lösen, sind aber bei ganz neutraler Reaction der Flüssigkeit unlöslich. Löslich ist dagegen bei neutraler Reaction (nach Zusatz von Blei-, Kupfer- oder Eisenoxydsalz) das Pepton und ein Theil der Albumosen.

Essigsaures Uran fällt in gerade genügender Menge oder im Ueberschuss nach Kowalewsky[1]) aus verdünntem Serum alles Eiweiss; der Niederschlag ist in Mineralsäuren und organischen Säuren löslich.

Nach Palm[2]) fällt Ferriacetat, welches durch Erhitzen mit frisch gefälltem Eisenhydrat alkalisch gemacht worden ist, in alkoholischer Lösung bei gelindem Erwärmen auch die geringsten Mengen Eiweiss vollständig. Als gleichfalls empfindlich bezeichnet Palm alkoholische Lösung von basischem Kupferacetat (Grünspan), alkoholische Lösung von Bleiessig oder Bleichlorid, und eine Lösung von Bleihydrat in warmem Wasser, besonders bei Gegenwart von Alkohol.

E. Alkaloidreactionen. Die Eiweisskörper geben selbst in Spuren mit solchen Reagentien Niederschläge, welche auch die Alkaloide fällen.

---

1) N. Kowalewsky, Ztschr. f. analyt. Ch. **24**. 551. 1885.
2) R. Palm, Ztschr. f. anal. Ch. **26**. 35. 1887.

Alle Eiweisssubstanzen, auch das Pepton, werden bei Gegenwart freier (Mineral-) Säure gefällt durch Phosphorwolframsäure (bei Gegenwart von Essigsäure unvollständig), Phosphormolybdänsäure, Tannin, Jodquecksilberkalium, Jodwismuthkalium, Quecksilberchlorid; ferner durch Pikrinsäure (pikrinsaures Pepton und pikrinsaure Albumose lösen sich in der Wärme). Auch der Xanthogensäure (Kaliumxanthogenat und Säure) wird dasselbe Verhalten zugeschrieben (Zöller, Palm[1]); nach Palm wird Pepton durch das Salz direkt gefällt.

Der Niederschlag, welchen Kühne'sches Pepton mit Tannin giebt, ist nach Sebelien und der der Deuteroalbumose nach Kutscher[2]) im Ueberschusse des Reagens löslich.

Tanninlösung bereitet man nach Almén durch Lösen von 5 g Tannin und 10 cc 25procentiger Essigsäure in 240 cc 40—50procentigem Weingeist (Sebelien).

Ferrocyanwasserstoff (Essigsäure und Ferrocyankalium) fällt nur das Harnpepton (aus Neutralsalzlösung) und wahrscheinlich auch die reine Deuteroalbumose (Kutscher) nicht; die Niederschläge mit den Albumosen sind bei Gegenwart von überschüssiger Essigsäure in der Wärme löslich, ferner in Neutralsalzlösungen die Niederschläge der Prot- und der Deuteroalbumose.

Als eiweissfällende Reagentien sind noch folgende Substanzen vorgeschlagen worden.

Nitroprussidnatrium in Gegenwart von Essigsäure (Mya[3]), Palm).

Rhodankalium (u. Essigsäure) (Zouchlos[4]).

Metaphosphorsäure fällt gleichfalls alle Eiweisskörper, mit Ausnahme des Peptons (Hofmeister); nach Dillner sowie Obermayer[5]) wird zwar Pepton in concentrirter Lösung von der Säure gefällt, löst sich aber im Ueberschuss der Säure leicht wieder auf.

Trichloressigsäure, zuerst von Grosssstern und Fudakowsky, dann wieder von Raabe und von Kowalewsky empfohlen; sie fällt die Albumosen (Pepton) nicht oder unvollständig, der Niederschlag löst sich in der Wärme (Martin, Obermayer[6]).

---

1) Ph. Zöller, Berichte d. chem. Gesellsch. **13**. 1062. 1880. — R. Palm, Ztschr. f. anal. Ch. **27**. 363. 1888.

2) J. Sebelien, Ztschr. f. physiol. Ch. **13**. 149. 1888; Tjdschr. for Physik og Chemi **9**. 234; Ch. Centralbl. 1890. **1**. 171. — Fr. Kutscher, Ztschr. f. physiol. Ch. **23**. 116. 1897.

3) G. Mya, Archiv. d. Pharm. **225**. 500; Ztschr. f. anal. Ch. **27**. 124.

4) C. Zouchlos, Wiener allgem. med. Ztg. **1**. 1890. 2.; Ztschr. f. analyt. Ch. **29**. 380.

5) F. Hofmeister, Ztschr. f. anal. Ch. **21**. 151. — Hj. Dillner, Jahresber. f. Thierch. 1882. 209. — F. Obermayer, Wiener med. Jahrb. 1889. 375; Centralbl. f. Physiol. 1889. 223.

6) Grosssstern u. Fudakowsky, bei Kowalewsky, Ztschr. f. anal. Ch. **24**. 551. 1885. — A. Raabe, Pharm. Ztschr. f. Russland **20**. 445; Ztschr. f. anal. Ch. **21**. 303. — N. Kowalewsky, a. a. O. — C. J. Martin, Journ. of Physiol. **15**. 376. — F. Obermayer, a. a. O.

Sulfosalicylsäure (Salicylsulfonsäure) (Roch, Mac William) sowie das Asaprol (β-Naphtol, α-Sulfonsäure und das Aseptol (Orthophenolsulfonsäure), beide in saurer Lösung (Riegler[1]) verhalten sich gegen die Eiweisskörper wie die Trichloressigsäure; die Albumoseniederschläge lösen sich in der Wärme.

Natriumsulphantimoniat (Schlippe'sches Salz) in Gegenwart von freiem Ammoniak; antimonsaures Kali (Palm[2]).

Wolframsäure und Molybdänsäure in essigsaurer Lösung (Sonnenschein, Jaworowski[3]).

Chromsäure (Kirk, Rosenbach, Guérin[4]).

Jodjodkalium und Salzsäure (Cohen[5]).

Chlorkalk und Salzsäure (Jolles[6]).

Die Eigenschaft, Eiweiss zu fällen, kommt noch zu der Nucleinsäure, einem Anhydrid der Glycerinphosphorsäure, den Seifen und dem Lecithin (Altmann[7]), sowie der Taurocholsäure (S. 231) und der Chondroitinschwefelsäure (S. 211).

Diese Substanzen finden als Reagentien keine Verwendung, sind aber darum von analytischer Bedeutung, weil bei ihrer Gegenwart in Eiweisslösungen auf Zusatz von Säure (Essigsäure) Verbindungen derselben mit Eiweiss als Niederschläge auftreten. Chondroitinsäure und Nucleinsäure kommen nach Mörner immer im Harn vor, Taurocholsäure zeitweilig (vergl. S. 416); das Rhodan und die freien Fettsäuren kommen dabei wegen ihres geringen Fällungsvermögens nicht in Betracht, die Fettsäuren und das Lecithin auch deshalb nicht, weil sie nicht oder nur selten in geringer Menge im Harn enthalten sind.

F. Farbenreactionen.

1. Biuretreaction. Albuminlösung giebt mit schwefelsaurem Kupfer einen bläulich weissen Niederschlag, der sich in Alkalilauge oder kohlensauren Alkalien mit schön violetter Färbung löst (Rose, Piotrowski[8]), die Nuance dieser Färbung ist abhängig von der Concentration der Eiweisslösung und von der Menge des zugesetzten Kupfersalzes. Fügt man zu einer Eiweisslösung zuerst Natronlauge im Ueberschuss, dann tropfenweise eine verdünnte Kupfervitriollösung und schüttelt

---

1) G. Roch, Pharmac. Centralh. **38**. 549. 1889; Ztschr. f. analyt. Ch. **29**. 241. — J. A. Mac William, Brit. med. Journ. 1891. **1**. 837 u. 1892. **1**. 115; Ztschr. f. analyt. Ch. **30**. 749; **31**. 483. — E. Riegler, Wiener klin. Wochenschr. **52**. 981. 1894; Wiener med. Blätter **35**. 1895. 551; Chem. Centralbl. 1895. **1**. 362 und 1083.

2) R. Palm, a. a. O. **26**. 36.

3) F. L. Sonnenschein, Vjahrschr. f. gerichtl. Med. [2] **17**. Hft. 2; Chem. Centralbl. 1873. 423. — A. Jaworowski, Jahresber. f. Thierch. 1892. 192; Pharmac. Ztg. f. Russland **35**. 83; Chem. Centralbl. 1896. **1**. 770.

4) Kirk, Glasgow med. Journ. April 1884. 320, nach Lecorché u. Talamon, Traité de l'albuminurie. Paris 1888. 40. — Rosenbach, Deutsche med. Wochenschr. **17**. 1892; Ztschr. f. anal. Ch. **32**. 517. — G. Guérin, Journ. de pharm. et de chimie [5] **27**. 362; Ztschr. f. analyt. Ch. **32**. 635.

5) A. B. Cohen, Nederl. Tijdschr. voor Geneesk. 1889. **2**. 561; Jahresber. f. Thierch. 1888. 116.

6) A. Jolles, Zeitschr. f. analyt. Ch. **29**. 406. 1890.

7) R. Altmann, Du Bois' Archiv 1889. 524.

8) Ferd. Rose, Poggend. Ann. **28**. 132. 1833. — Piotrowski, Ber. d. Wiener Akad. **24**. 335; Jahresber. f. Ch. 1857. 534.

nach jedesmaligem Zusatz von Kupfersalz gut um, so wird die Flüssigkeit erst rosa, dann violett, dann immer stärker blau, behält aber bis zuletzt einen deutlichen Stich ins Rothe, der namentlich gut hervortritt, wenn man die Flüssigkeit mit einer rein blauen vergleicht. Statt der einzelnen Reagentien lässt sich auch eine alkalische Kupferhydratlösung (Fehling-sche Flüssigkeit) verwenden.

Die Lösung zeigt nach Krukenberg bei Gegenwart von Pepton ein von D 50 E bis F reichendes Absorptionsband. — Enthält die Lösung gleichzeitig gelbe Farbstoffe, so wird das Blau der Biuretfärbung mehr oder minder vollständig ausgelöscht und die Flüssigkeit erscheint dann nur schmutzig roth. — Posner[1]) schichtet auf die alkalisch gemachte Eiweisslösung eine sehr verdünnte (fast farblose) Kupfervitriollösung (z. B. 5 cc gesättigter Kupfersulphatlösung auf 1 Liter Wasser). — Es giebt Eiweisssubstanzen, bei welchen, wie bei dem Mucoid, welches nach der Coagulation von Eiereiweiss in Lösung bleibt, die Biuretfärbung nicht über das Violett hinausgeht. Als Bestandtheile des Harns sind solche nicht bekannt.

Eine ammoniakalische Kupfersulphatlösung bleibt nach Gnežda[2]) mit Albumin blau, wird aber mit Albumose violett; die blaue albuminhaltige Lösung wird auf Zusatz von Kali oder Natron gleichfalls violett, die albumosehaltige rosenroth.

Nickel und Kobalt geben auch eine eigenthümliche Biuretfärbung. Die blaue Lösung von Nickelsulphat in Ammoniak wird nach Gnezda mit Albumin blassblau, mit Albumose gelb unter Abscheidung eines flockigen Niederschlags; auf nachträglichen Zusatz von fixem Alkali wird die Albuminlösung gelb, die Albumoselösung orange, beide unter Bildung eines flockigen Niederschlags. — Eine albuminhaltige Kobaltsulphatlösung färbt sich nach Pickering[3]) mit Ammoniak gelb, mit Kali heliotrop, purpurn und in 30—40 Min. ziegelroth; dieselbe Färbung zeigt eine ammoniakalische Lösung auf Zusatz von Kali, bei Gegenwart von nur wenig Albumin wird sie aber braun. Albumose verhält sich gegen Kobaltsulphat und Ammoniak wie Albumin, wird aber mit dem Sulphat und Kali zunächst röthlich purpurn, in 5—10 Secunden aber rothbraun.

Die Biuretreaction gelingt auch mit coagulirtem Eiweiss; man übergiesst solches mit einer sehr verdünnten Kupfervitriollösung, entfernt, wenn das Coagulum mit der Lösung durchtränkt ist, dieselbe wieder, und bringt darauf das Gerinnsel in mässig verdünnte Natronlauge; das Coagulum nimmt dabei eine schön veilchenblaue Färbung an (Brücke).

2. Xanthoproteïnreaction. Versetzt man wenig einer Albuminlösung mit concentrirter Salpetersäure und erwärmt, gleichgültig, ob der entstandene Niederschlag wieder in Lösung gegangen war oder nicht, so färbt sich die Flüssigkeit unter theilweiser oder gänzlicher Lösung des vorhandenen Niederschlags citronengelb; die Albumosen und das Pepton erleiden diese Gelbfärbung schon in der Kälte; übersättigt man die Flüssigkeit mit einem Alkalihydrat, so nimmt sie eine intensiver gelbe oder in's Bräunliche spielende Färbung an. Auch gefälltes Eiweiss giebt diese Reaction. — Ammoniak ist nur dann für die Uebersättigung geeignet, wenn es für sich mit concentrirter Salpetersäure farblos bleibt.

3. Millon'sche Reaction. Man setzt zu einer Eiweisslösung reichlich eine Lösung von salpetersaurem Quecksilberoxyd und erhitzt zum Kochen. Der Flüssigkeit wird dann abermals reichlich eine Lösung von salpetrigsaurem Kali

---

1) C. Fr. W. Krukenberg, Verhandl. d. physik. med. Gesellsch. zu Würzburg, N. F. 18. 202. 1884. — C. Posner, Du Bois' Archiv 1887. 497.

2) J. Gnezda, Proceed. of the roy. Soc. 47. 202. 1889; Chem. Centralbl. 1890. 1. 1030.

3) J. W. Pickering, Journ. of Physiol. 14. 354. 1893.

hinzugefügt. Häufig färben sich schon jetzt Flüssigkeit und Niederschlag roth, sicher tritt aber die Färbung ein, wenn die Mischung abermals gekocht wird. Der Niederschlag ist meist dunkler roth gefärbt, als die Lösung, oft auch der Niederschlag allein gefärbt. Die Reaction gelingt auch mit Eiweissniederschlägen. Bei Gegenwart von viel Chloriden kann sie nach Salkowski[1]) ganz ausbleiben. Selbstverständlich lässt sich die Reaction auch mit dem fertigen Millon'schen Reagens (S. 153) anstellen.

Käufliches salpetrigsaures Kali giebt oft wegen seines Gehaltes an kohlensaurem Salz mit der Flüssigkeit einen Niederschlag, welcher die Reinheit der Reaction in erheblicher Weise stört; die Kohlensäure lässt sich am Einfachsten durch Zusatz von Salpetersäure aus dem Nitrit entfernen.

4. Furfurolreactionen. Reine Eiweisskörper, auch das Pepton, dagegen nicht der Leim, liefern nach v. Udránszky bei der Destillation mit Schwefelsäure eine Flüssigkeit, in welcher sich durch besondere Reactionen Furfurol nachweisen lässt. Auch andere Säuren sind zur Bildung von Furfurol geeignet; die Ausbeute ist nach Günther, de Chalmot und Tollens[2]) gering. Für den Nachweis des Furfurols hat man nicht nöthig, es abzudestilliren. Das Eiweiss selbst bildet mit Furfurol farbige Verbindungen und man kann diese entweder mit dem aus Eiweiss selbst, oder aus einer anderen Substanz (Zucker) erzeugten Furfurol herstellen.

a. Reactionen von Molisch. Seegen[3]) hat gezeigt, dass die von Molisch zum Nachweis von Zucker angegebenen Furfurolreactionen auch auf (zuckerfreie) Eiweisskörper anwendbar sind.

Versetzt man nach Molisch[4]) 0,5—1 cc einer Eiweisslösung mit zwei Tropfen einer 15—20 proc. alkoholischen α-Naphtollösung, darauf mit dem vierfachen Volumen concentrirter Schwefelsäure und schüttelt um, so erhält man (auch vom Pepton) eine granat- oder rubinrothe bis violette Lösung. Verdünnt man die Flüssigkeit mit Wasser, so entstehen violette (bei Fibrin braune) Niederschläge, die sich in concentrirter Salzsäure zumeist mit schön violetter Farbe lösen.

Verwendet man statt der α-Naphtollösung eine ebenso starke alkoholische Thymollösung, so erhält man rothe Lösungen, welche bei den meisten Eiweisskörpern durch Verdünnen schmutzig gelbliche oder gelbbraune Niederschläge, beim Pepton aber einen rothen Niederschlag geben. Alle diese Niederschläge lösen sich in concentrirter Salzsäure mit karminrother oder rothvioletter Farbe.

b. Reaction von Max Schultze. Wenn man einer Lösung von Eiweiss in mässig concentrirter Schwefelsäure einige Tropfen einer verdünnten Rohrzuckerlösung hinzufügt und die Flüssigkeit auf 60° erwärmt, so färbt sie sich schön bläulich roth. Das Einhalten der Temperatur von 60° ist für das Gelingen der Reaction von wesentlicher Bedeutung.

c. Reaction von Adamkiewicz. Eine Lösung von Eiweiss in Eisessig nimmt auf Zusatz von concentrirter Schwefelsäure eine schön violette Färbung und schwache grünliche Fluorescenz an; bei geeigneter Concentration zeigen die Lösungen im Spectrum einen Absorptionsstreifen zwischen b und F, wie das

---

1) Salkowski, Virchow's Archiv **81**. 552.

2) L. v. Udránszky, Ztschr. f. physiol. Ch. **12**. 392. 1888. — A. Günther, G. de Chalmot u. B. Tollens, Ber. d. chem. Gesellsch. **25**. 2569. 1892.

3) Seegen, Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1886. 802.

4) H. Molisch, Monatshefte f. Chemie **7**. 198; Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1887. 49.

Urobilin, welchem nach Krukenberg[1]) ein Streifen zwischen D und E vorhergeht. Die Probe gelingt nach Krukenberg mit allen Eiweisskörpern, auch mit Pepton, dagegen mit Leim und seinen Abkömmlingen nicht.

Man kann die Probe so anstellen, dass man die Lösung in Essigsäure der concentrirten Schwefelsäure hinzufügt, oder dass man der Mischung beider Säuren die Eiweisslösung tropfenweise zusetzt. Hammarsten erhitzt eine kleine Menge der Eiweisslösung oder der festen Substanz in einem Gemisch von 1 Vol. conc. Schwefelsäure und 2 Vol. Eisessig zum Sieden, wobei die violette Farbe besser als bei Zimmertemperatur hervortritt. Nach Wurster gelingt die Reaction am Sichersten und Schönsten, wenn man der Probe einige Körnchen Kochsalz hinzufügt. Schichtet man nach Posner die Lösung des Eiweisses in Eisessig auf die concentrirte Schwefelsäure, so entsteht an der Berührungsstelle beider Flüssigkeiten ein violetter Ring von stärkerer Färbung, als wenn man mischt. Der dabei entstehende urobilinähnliche Farbstoff lässt sich nach Michailow[2]) aus der Lösung durch Sättigen mit Ammonsulphat, neben Eiweiss, abscheiden und dem Niederschlag durch Alkohol entziehen.

Die Angabe von Palm[3]), dass man die Adamkiewicz'sche Reaction auch mit Gallensäuren, Oelsäure, Amylalkohol erhält, ist nur unter der Voraussetzung verständlich, dass die Essigsäure (und der Amylalkohol) Furfurol enthalten hat.

d. Reaction von Liebermann. Die bekannte Violettblaufärbung, welche Eiweiss beim Erhitzen mit Salzsäure erleidet, tritt am Schönsten ein, wenn man die Probe erst durch wiederholtes Auskochen mit Alkohol, dann durch wiederholte Extraction mit Aether entfettet und darauf mit concentrirter, am Besten rauchender Salzsäure erhitzt oder mit der heissen Säure auf einer weissen Unterlage übergiesst. Statt der Salzsäure verwendet man nach Wurster besser eine Mischung von gewöhnlicher Salzsäure mit $^1/_{10}$—$^1/_5$ Vol. concentrirter Schwefelsäure. Nach Krukenberg[4]) weist die Flüssigkeit einen breiten auf E und b und nach beiden Seiten darüber hinausliegenden Absorptionsstreifen auf.

Die Reaction gelingt nach Liebermann mit den meisten Eiweisskörpern, jedoch nicht mit dem Chondrin, Keratin, ferner nach le Nobel nicht mit dem in gesättigter Ammonsulphatlösung löslichen Pepton. Die Probe versagte Liebermann mit dem mucinartigen Körper des Pferdeharns, nach Posner[5]) deshalb, weil zu wenig Harn zu dem Versuch verwandt wurde. Hämoglobin ist für die Reaction nicht geeignet.

5. Diazoreaction nach Petri[6]). Versetzt man eine Eiweiss- oder Peptonlösung mit Diazobenzolsulfosäure, so tritt nur eine schwache Gelbfärbung ein; macht man die Mischung aber mit fixem Alkali alkalisch, so wird die Flüssigkeit, je nach ihrer Concentration, orangegelb bis braunroth und giebt einen rothen Schüttelschaum.

Die Lösung absorbirt das Licht vom violetten Ende, je nach der Concentration, bis in das Roth. Ammoniak giebt gleichfalls eine intensive, aber nur gelbe Färbung ohne Beimischung von Roth.

---

1) Adamkiewicz, Pflüger's Archiv **9**. 156. 1874; Ber. d. chem. Gesellsch. **8**. 161. 1875; Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1875. 856; Arch. f. exper. Pathol. **3**. 423; Ztschr. f. analyt. Ch. **15**. 467. — Krukenberg, Chemische Untersuchungen **1**. 100. 1886.

2) O. Hammarsten, Pflüger's Archiv **36**. 389. 1885. — C. Wurster, Centralbl. f. Physiol. 1887. 193. — C. Posner, Virchow's Archiv **104**. 503. 1886. — W. Michailow, Berichte d. chem. Gesellsch. **17**. Ref. 255. 1884.

3) R. Palm, Ztschr. f. analyt. Ch. **26**. 36. 1887.

4) L. Liebermann, Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1887. 321 u. 450. — Krukenberg, Verhandl. d. physik. med. Gesellsch. zu Würzburg N. F. **18**. 201. 1884.

5) le Nobel, Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1887. 625. — Posner, Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1887. 420.

6) Petri, Ztschr. f. physiol. Ch. **8**. 294.

Versetzt man eine solche gelbrothe Flüssigkeit mit Zinkstaub oder Natriumamalgam, so wird sie, bei gleichzeitigem Luftzutritt, schön fuchsinroth. Bei geeigneter Verdünnung zeigt sie dann zwei Absorptionsstreifen, einen von D bis F und einen zweiten von G bis zum violetten Ende reichenden. Beim Neutralisiren wird die fuchsinrothe Lösung gelb, beim Uebersättigen mit einer Mineralsäure wieder roth, aber in anderer Nüance als vorher, und weist dann eine von D beginnende Absorption, ohne Aufhellung im blauen Theil, auf. Organische Säuren rufen dieses Roth nicht hervor. Ammoniak färbt die Flüssigkeit blos gelb, fixes Alkali im Ueberschuss dagegen wieder fuchsinroth. Bei der Reduction unter Abschluss der Luft entsteht eine gelbliche Flüssigkeit, die bei Luftzutritt fuchsinroth wird. — Traubenzucker giebt nach Petri ganz dieselben Farbenerscheinungen (S. 108).

6. Eine Eiweisslösung färbt sich wie das Tyrosin (§. 30. IV. B. 7. S. 282) beim Erwärmen mit etwas trockenem Chinon nach Wurster[1]) tiefrubinroth; nach längerem Stehen wird die Flüssigkeit braun.

7. Bei aufeinander folgender Behandlung von (festem) Eiweiss mit salpetriger Säure und alkalischen Lösungen von Phenolen (Phenol, Resorcin, Pyrogallol, α- und β-Naphtol) färbt es sich nach Obermayer[2]) intensiv, meist roth oder braun. Die Reaction beruht, wie die ähnliche des Tyrosins (§. 30. IV. B. 11. S. 283) auf der Bildung einer Diazoverbindung.

8. Setzt man nach Reichl[3]) zu einer Eiweisslösung 2—3 Tropfen einer alkoholischen Benzaldehydlösung, dann ziemlich viel mit einem Vol. Wasser verdünnte Schwefelsäure und endlich einen Tropfen Ferrisulphatlösung, so tritt in der Kälte nach einiger Zeit, beim Erwärmen sofort eine dunkelblaue Färbung ein. Feste Eiweisskörper färben sich, wenn sie sich in der Säure nicht lösen, in Substanz blau. Die Schwefelsäure lässt sich auch durch concentrirte Salzsäure, das Ferrisulphat durch Eisenchlorid, Salpetersäure, Quecksilberoxyd und andere oxydirende Substanzen ersetzen. Der blaue Körper ist in Wasser und Säuren löslich und zeigt einen Absorptionsstreifen bei D. Alkalihydrate geben mit der Lösung einen braunen Niederschlag, der sich nach dem Auswaschen in Säuren wieder mit blauer Farbe löst. Die Reaction ist nicht so empfindlich als 2 und 3, sie wird nur noch mit 6 proc. Eiweisslösungen erhalten. Die Reaction ist bis jetzt nur mit Eier- und Serumeiweiss, Casein, Fibrin, Wolle und pflanzlichen Eiweisskörpern angestellt worden. — Auch viele andere Aldehyde gehen die Reaction ein; Salicylaldehyd färbt blau bis violett, Piperonal veilchenblau, Vanillin roth, violett, veilchenblau, Anisaldehyd violett und blau. Da Indol und Skatol mit Benzaldehyd blaue und braune Condensationsprodukte geben, so scheint diese Gruppe im Eiweiss die Reaction zu bewirken.

9. Reaction von Fröhde[4]). Beim Behandeln von festem Albumin mit molybdänsäurehaltiger Schwefelsäure färbt es sich schön dunkelblau.

10. Versetzt man nach Michailow[5]) Eiweiss oder einen noch Stickstoff und Schwefel enthaltenden Abkömmling desselben mit Eisenvitriol, schichtet die Mischung auf concentrirte Schwefelsäure und fügt vorsichtig sehr wenig Salpetersäure hinzu, so treten ausser dem braunen Ringe des Stickoxyd-Eisenoxydulsalzes noch Ringe von blutrother Farbe (Rhodaneisen?) auf. Eine schwache Rosafärbung zeigt sich auch allein beim Zusammenbringen der Reagentien.

11. Säuert man nach Axenfeld Eiweisslösung mit Ameisensäure an, fügt 0,1 proc. Goldchloridlösung tropfenweise hinzu und erwärmt, so färbt sich die Lösung erst rosenroth, darauf purpurroth, dann nach weiterem Zusatz von Goldchlorid blau und endlich tritt ein blauer flockiger Niederschlag ein. Albumosen

---

1) Wurster, Centralbl. f. Physiol. 1887. 195.
2) F. Obermayer, Ber. d. chem. Gesellsch. 27. Rf. 354. 1894.
3) C. Reichl, Monatshefte f. Ch. 10. 317. 1889; 11. 155. 1890.
4) Fröhde, Ztschr. f. analyt. Ch. 7. 266.
5) W. Michailow, Ber. d. chem. Gesellsch. 17. Ref. 450.

werden nach Pickering[1]) nur röthlich violett. Für Eiweiss charakteristisch ist nur die Rothfärbung; blau und violett wird die Probe auch durch viele andere Körper, wie Traubenzucker, Glykogen, Stärkemehl, Leucin, Tyrosin, Harnsäure, Harnstoff, Kreatinin etc. Reiner Leim giebt eine dichroitische braune und röthliche Färbung, Guanin eine schön purpurrothe, die jedoch, zum Unterschied vom Eiweiss durch fixes Alkali in Orangegelb übergeht. — Die Probe ist sehr empfindlich, Kochsalz, Harnstoff, Harnsäure, Traubenzucker hindern nur in grossen Mengen und bedarf es dann zur Hervorrufung der Eiweissreaction eines stärkeren Zusatzes von Ameisensäure und Goldchlorid.

12. Die Farbenreactionen, wenn vielleicht auch nicht alle, können auch mit Eiweissniederschlägen, sowie dem mit Ferrocyanwasserstoff (Winternitz[2]), dem Phosphorwolframsäureniederschlag etc. erhalten werden.

I. Albumin.[3])

A. *Vorkommen.* Das im Harn auftretende Albumin ist Serumalbumin. Eiweiss findet sich in jedem normalem Harn, in solchem, welcher die sehr empfindliche Heller'sche Reaction nicht giebt, in Mengen bis zu 0,08 gr im Liter (vergl. S. 416). Unter pathologischen Verhältnissen erscheint es im Harn vor Allem bei Erkrankungen der Niere selbst (Nephritis, Amyloidentartung u. s. w.), ferner aber auch ohne eine solche von wesentlicher Bedeutung bei Circulationsstörungen, wie bei Herzfehlern, Emphysem (Stauungsalbuminurie), bei lang andauerndem hohen Fieber (febrile Albuminurie) u. s. w., Verhältnisse, welche, wie die transitorische Albuminurie Gesunder, auf Circulationsstörungen in der gesunden Niere zurückgeführt werden. Endlich kann sich dem Harn mit dem Secret der erkrankten Harnwege, durch Erguss von Chylus in die Harnwege u. s. w. Albumin beimischen. Nur in sehr seltenen Fällen, wenn überhaupt, mag Albumin allein im Harn vorkommen, in der Regel ist es von Globulin begleitet.

Der Gehalt des Harns an Gesammteiweiss kann bei Nephritis auf 5 % und darüber steigen, wiewohl dies nur ausserordentlich selten geschieht; in anderen Fällen von Albuminurie beträgt dagegen der Eiweissgehalt bedeutend weniger, bei Amyloidniere selten mehr als 0,5 % selbst nur 0,5 ‰. In der Tagesmenge Harn können weniger als 1 gr bis 20 gr und darüber enthalten sein.

B. *Eigenschaften.* Zweifellos sind im Blutserum, aus welchem das Eiweiss des Harns stammt, mehrere Albumine enthalten. Diese Thatsache war schon deshalb wahrscheinlich, weil nach Halliburton[4])

---

[1]) D. Axenfeld, Centralbl. f. d. med. Wissenschaften 1885. 209. — J. W. Pickering, Journ. of Physiol. **14**. 376. 1893.

[2]) H. Winternitz, Ztschr. f. physiol. Ch. **16**. 439. 1892.

[3]) Der Körper heisst Albumin und nicht Albumen, wie man öfter zu sagen beliebt; Albumen bedeutet das Weisse im Ei, ist also ein anatomischer, kein chemischer Begriff.

[4]) W. D. Halliburton, Journ. of Physiol. **5**. 158 u. 192. 1884.

dem vom Globulin vollständig befreiten Serum drei verschiedene Coagulationspunkte zukommen.

Es coagulirt bei 73^0, 77^0 und 84^0. Halliburton bezeichnet diese drei Arten als α-, β- und γ-Albumin. Das bei 73^0 gerinnende ist in grösster, das bei 84^0 gerinnende in geringster Menge vorhanden. Beim Ochsen, Schaf und Pferd, welche zu den Ungulaten gehören, fehlt das α-Albumin, beim Kaninchen, Menschen, Affen, Schwein, beim Hund und der Katze ist es vorhanden. Corin und Ansiaux ist es gelungen, die im Rindsblutserum enthaltenen Albumine dadurch zu trennen, dass sie beim Beginn einer Trübung die Temperatur constant hielten, die sich darnach abscheidenden Flocken abfiltrirten und in Wasser lösten (vgl. S. 418). Diese Coagulation wurde mit den einzelnen Fractionen wiederholt. Es ergab sich, dass das β-Albumin bei 73—74^0, das γ-Albumin bei 79—80^0 coagulirte, wenn das Globulin durch Magnesiumsulphat abgeschieden war; in Gegenwart von Ammonsulphat lagen die Coagulationspunkte um einige Grade tiefer.

Der Beweis ist aber von Gürber dadurch erbracht, dass es ihm gelang, aus Pferdeblutserum, neben amorphem Albumin, zwei verschiedene krystallisirende Albumine abzuscheiden.

Gürber hat im Verein mit seinen Schülern Michel und Meyer[1]) aus Pferdeblutserum durch fractionirte Fällung mit Ammonsulphat zwei solche Albumine dargestellt, von denen das eine (Fraction I) in bis 1 mm grossen, positiv doppelbrechenden sechsseitigen Prismen krystallirt, welche an dem einen Ende eine sechsseitige Pyramide tragen, am anderen aber abgerundet oder flach begrenzt sind. Dieses Albumin coagulirt in wässriger Lösung bei 51—53^0, in 0,6 proc. Kochsalzlösung bei 64^0 und besitzt die spec. Drehung von $[\alpha]_D = -61,0$ bis $-61,2^0$. Die Fraction II krystallisirt in rechtwinkligen Tafeln. Zwei andere in Nadeln krystallisirende Albumine (Fraction III und IV) erwiesen sich als Produkte der Einwirkung des Ammonsulphats auf das Albumin der Fraction I. Das der Fraction III coagulirt bei 56—58^0 und hat $[\alpha]_D = -64^0$.

Nur das Serum vom Pferd und vom Kaninchen lieferte krystallisirendes Albumin, das vom Ochsen, Hammel, Schwein, vom Hund und von der Katze dagegen nicht. Und auch das Serum vom Pferd gab nicht immer krystallisirendes Albumin, sondern nur das von ganz gesunden Thieren, deren Serum mehr Albumin als Globulin enthielt; aus Serum mit mehr Globulin als Albumin konnten die Krystalle nicht erhalten werden.

Bei eiweisshaltigem Harn schwankt die Coagulationstemperatur nach Gerhardt zwischen 56 und 81^0, nach Lauder Brunton und d'Arcy Power[2]) zwischen 55,6 und 82,2^0. Welche von den möglichen Einflüssen dabei im Spiele sind, ist nicht bekannt. Die niedersten Temperaturen sind aber wohl auf die Gegenwart eines Globulins zu beziehen.

Die hier angeführten Eigenschaften des Albumins beziehen sich auf das native oder auf solches, welches durch Neutralsalz vom Globulin getrennt und durch Dialyse vom Salz befreit war.

---

1) A. Gürber, Sitzungsber. d. physik.-med. Gesellsch. zu Würzburg 1894. 143. — A. Michel, zur Kenntniss der Gürber'schen Serum-Albumin-Krystalle. Nebst einem Nachtrag von Gürber. Würzburg, Stahel'sche Buchh. 1895; Verhandl. d. physik.-med. Ges. zu Würzburg [2] **29**. 117; Jahresber. f. Thierch. 1895. 11; Chem. Centralbl. 1896. **1**. 759; Centralbl. f. d. med. Wiss. 1896. 152; Centralbl. f. Physiol. **10**. 41. — G. Meyer, weitere Beiträge zur Kenntniss der Krystallisation des Serumeiweisses. Diss. Würzburg, Scheiner, 1896.

2) C. Gerhardt, Archiv f. klin. Med. **5**. 214. — Lauder Brunton und d'Arcy Power, St. Bartholomew's Hosp. Reports **13**. 283.

1. Das durch Verdunsten einer Albuminlösung bei niederer Temperatur (bei 40° oder im trockenen Vacuum) erhaltene Albumin stellt eine spröde, schwach durchscheinende, von Beimengungen gelbe Masse dar. Ein Albumin aus Pferde- und Kaninchenblut ist krystallisationsfähig (S. 428).

2. In kaltem Wasser oder in Wasser von 40—50° löst sich das Albumin zu einer klaren, etwas klebenden, leicht filtrirenden Flüssigkeit In Alkohol ist das Serumalbumin unlöslich. Versetzt man eine Albuminlösung reichlich mit Alkohol, so entsteht ein flockiger Niederschlag, der sich in Wasser wieder löst, wenn er bald aus der alkoholischen Flüssigkeit entfernt wird, dagegen nur zum Theil oder fast gar nicht, wenn er längere Zeit unter Alkohol aufbewahrt wird. Unter schwachem Alkohol wird das Albumin nach Hammarsten[1]) vollständiger unlöslich als unter starkem.

3. Ueber das Verhalten des Albumins zu Salzen vergl. S. 418.

4. Albumin diffundirt sehr schwer, doch, nach Gottwalt[2]), leichter als Globulin.

5. Die spec. Drehung des (menschlichen) Albumins ist nach Starke[3]) bestimmt worden zu $[\alpha]_D = -62{,}6$ bis $-64{,}59^0$.

Das Albumin war aus Ascitesflüssigkeit oder Hydrocele dargestellt. Für Albumin aus Pferdeblutserum fand Starke $[\alpha]_D = -60{,}05^0$, für solches aus Rindsblutserum Sebelien[4]) $[\alpha]_D = -60{,}1$ und $62{,}6^0$. Das Albumin aus Pferdeblut besass nach Analysen von Hammarsten eine etwas andere Zusammensetzung als das aus den serösen Flüssigkeiten des Menschen und enthielt namentlich weniger Schwefel (1,80 % gegen 2,28 %). Vergl. Gürber, S. 428.

6. Eine in passender Weise angesäuerte Albuminlösung scheidet in der Wärme unter Abnahme der sauren Reaction das Eiweiss in Flocken aus. Die Coagulationstemperatur hängt von verschiedenen Umständen ab; bei natürlichen Eiweisslösungen liegt sie in der Hauptsache bei 72—73°. Vergl. Halliburton, S. 428.

Eine durch Diffusion möglichst salzarm gemachte Albuminlösung gerinnt bei einer verhältnissmässig niederen Temperatur (Haas), etwa 50° (Starke[3]).

Durch Zusatz von Chlornatrium steigt nach Starke sowie Gürber (S. 428) die Gerinnungstemperatur und bei einem Gehalt der Flüssigkeit an 5 % Chlornatrium tritt die Coagulation nach Starke erst bei etwa 75—80° ein. Gleiches gilt nach Corin u. Ansiaux (S. 428) vom Magnesiumsulphat. Auch der Harnstoff erhöht nach Lauder Brunton und d'Arcy Power die Gerinnungstemperatur. Sättigen einer Albuminlösung mit Neutralsalz hat aber nur einen geringfügig erhöhenden (bei Natriumsulphat) oder vermindernden (bei Natrium- und Kaliumnitrit) Einfluss auf die Gerinnungstemperatur (Halliburton[5]). Auch ein steigender Gehalt der Lösung an Albumin setzt nach Starke die Coagulationstemperatur herab. In nicht hinlänglich sauren Flüssigkeiten liegt die Gerinnungstemperatur höher, in zu stark sauren niederer als bei richtigem Säuregehalt.

---

1) Hammarsten, Ztschr. f. physiol. Ch. 6. 222. 1882.
2) E. Gottwalt, Ztschr. f. physiol. Ch. 4. 423. 1880.
3) K. V. Starke, Jahresber. f. Thierch. 1881. 17.
4) J. Sebelien, Ztschr. f. physiol. Ch. 9. 459. 1885.
5) W. D. Halliburton, Journ. of Physiol. 5. 158 und 192. 1884.

Bevor sich das Albumin bei der Coagulation in Flocken abscheidet, trübt sich die Flüssigkeit, zuerst zwischen 60 und 65°; bei den in höherer Temperatur gerinnenden Albuminen tritt die Trübung 1—2° vor dem Coagulationspunkt ein. Erhitzt man eine mit Ammonsulphat gesättigte Albuminlösung einige Zeit in strömendem Dampf, so löst sich das Albumin auch nach Entfernung der Salzlösung nach Devoto[1]) nicht mehr in Wasser, gleichgiltig welche Reaction die Lösung vor dem Salzzusatz besass.

7. Das Albumin wird durch Alkalihydrate oder alkalisch reagirende Salze (Alkalicarbonat oder normales und einfach saures Alkaliphosphat), sowie durch Säuren in Protein übergeführt, um so schneller, je mehr Reagens zugegen und je höher die Temperatur ist. Dieses Verhalten des Albumins ist für den Nachweis und die Abscheidung des Albumins, und da sich das Globulin dem Eiweiss ganz gleich verhält, des Eiweisses überhaupt von Wichtigkeit.

a. Wird das Albumin durch Alkalihydrat oder alkalisch reagirendes Salz in Protein verwandelt, so vereinigt sich das Protein mit der Basis zu Albuminat. Da dieses in Wasser und namentlich in salzhaltigem Wasser viel schwerer löslich ist als das Albumin, so erhält man aus concentrirten und besonders aus salzreichen Albuminlösungen trübe, im entgegengesetzten Falle aber mehr oder minder klare Flüssigkeiten. Entzieht man dem Albuminat durch Zusatz einer Säure geradeauf alle Basis, so fällt das Protein in deutlichen Flocken innerhalb der wasserklaren Flüssigkeit aus. Ist das Protein aus reinem Albumin durch einen Ueberschuss von Alkalihydrat oder Alkalicarbonat erhalten worden, so wird die Flüssigkeit bei allmählichem vorsichtigen Zusatz von Säure neutral, bleibt aber in Gegenwart einer genügenden Menge Wasser klar, die Lösung enthält jetzt neutrales Albuminat. Bei weiterem Zusatz von Säuren trübt sich die Flüssigkeit milchig und nimmt, wie ich wahrgenommen habe, saure Reaction an, indem jetzt das schwerer lösliche saure Albuminat entsteht; fährt man mit dem Zusetzen von Säure fort, so scheidet sich endlich das völlig in Freiheit gesetzte Protein aus wieder neutral und klar gewordener Flüssigkeit in Flocken ab. Fügt man noch einen Ueberschuss an Säure hinzu, so geht nun Acidalbumin mit saurer Reaction in Lösung.

Bei der Fällung des Proteins verhalten sich nach einer von mir ausgeführten Untersuchung alle als Reagentien gebräuchlichen Säuren gleich, es wird von jeder das zur Basenbindung erforderliche Aequivalent verbraucht. Dagegen findet bei der Lösung des Proteins ein Unterschied zwischen den Mineralsäuren und der Essigsäure statt; von den Mineralsäuren braucht man nämlich zur Lösung gleicher Mengen Protein gleiche Moleküle, wobei die Salzsäure und die Salpetersäure normales, die Schwefelsäure saures Proteinsalz bilden, von der Essigsäure ist dagegen zur Erzielung einer Proteinlösung eine viel grössere, als die einer Mineralsäure äquivalenten, Menge erforderlich. Kommt es darauf an, aus einer Albuminatlösung das Protein mittelst einer Säure möglichst vollständig abzuscheiden, so bedient man sich daher dazu besser der Essigsäure als einer Mineralsäure, weil man bei Verwendung von Essigsäure weniger Gefahr läuft, durch einen Ueberschuss an Säure Protein wieder in Lösung zu bringen, als bei Anwendung einer Mineralsäure. Das zweifach saure Phosphat fällt das Protein wie eine Säure, unterscheidet sich von diesen jedoch dadurch, dass es das Protein im Ueberschuss nicht merklich wieder löst.

b. Diese Verhältnisse erleiden eine Abänderung bei gleichzeitiger Gegenwart von Phosphaten. Normales und einfach saures Phosphat hält Protein in Lösung; eine solche Phosphate enthaltende Albuminatlösung kann erst

---

[1]) Devoto, Ztschr. f. physiol. Ch. 15. 465. 1891.

dann einen Proteinniederschlag geben, wenn diese Phosphate durch Zusatz von Säure in zweifach saures Phosphat verwandelt sind. Nach Soyka [1]) beginnt die Fällung des Proteins, wenn 0,9 der gesammten Phosphorsäure in zweifach saures Phosphat übergeführt ist und ist vollständig, wenn die Flüssigkeit nur zweifach saures Phosphat enthält. Die Fällung des Proteins erfolgt bei Gegenwart von Phosphat demnach unter ganz denselben Bedingungen, wie die Fällung des Albumins aus seiner mit Magnesiumsulphat gesättigten Lösung (S. 419). Eine Lösung mit 0,9 Mol. zweifach- und 0,1 Mol. einfach saurem Phosphat reagirt aber sauer (S. 29). Bei Gegenwart von Phosphat in einer Albuminatlösung fällt also das Protein erst aus, wenn die Flüssigkeit saure Reaction angenommen hat.

c. Natürliche Eiweisslösungen, wie das Serum, enthalten alkalisch reagirende Salze in genügender Menge, um alles Albumin (und Globulin) beim Kochen in Albuminat überzuführen. Ist die seröse Flüssigkeit hinlänglich verdünnt, so erscheint sie fast klar. Auf Zusatz von Säure tritt dann zunächst gleichmässige Trübung ein, darauf Abscheidung des Proteins in Flocken. Wenn die Fällung vollendet ist, besitzt die Flüssigkeit wegen ihres Gehalts an Phosphat saure Reaction. Selbstverständlich kann man aus einer Eiweisslösung beim Kochen sofort einen flockigen Niederschlag in wasserklarer Flüssigkeit erhalten, wenn man die Lösung vor dem Erhitzen entsprechend ansäuert. Nur findet zwischen dem vorläufigen und dem nachträglichen Ansäuern insofern ein Unterschied statt, als sich, wie ich gefunden habe, zweifach saures Phosphat enthaltende Albuminatlösungen herstellen lassen, welche nicht schon in der Kälte, wohl aber erst beim Kochen einen flockigen Niederschlag von coagulirtem Eiweiss geben.

Von einer serösen Flüssigkeit unterscheidet sich eiweisshaltiger Harn bei saurer Reaction nur dadurch, dass in ihm das zweifach saure Phosphat überwiegt, ohne dass er ganz frei von einfach saurem Phosphat zu sein braucht. Ein eiweisshaltiger Harn von saurer Reaction kann also beim Kochen sogleich einen flockigen Niederschlag in wasserklarer Flüssigkeit geben, ohne dass jedoch deshalb alles Eiweiss gefällt sein muss.

d. Kocht man in der Kälte gefälltes Protein, so schrumpfen die Flocken auf ein viel kleineres Volumen ein und sind nun, in der Kälte, in Basen oder in Säuren nicht mehr so leicht löslich als vorher. Von derselben Beschaffenheit ist das durch Kochen einer passend angesäuerten Eiweisslösung direkt erhaltene coagulirte Protein.

e. Säuren vereinigen sich mit dem aus Albumin entstandenen Protein zu Acidalbumin. Dieses ist in einem Ueberschuss der concentrirten gewöhnlichen Mineralsäuren (Salzsäure, Schwefelsäure, Salpetersäure), sowie in Neutralsalzlösungen (Panum [2]) unlöslich, dagegen in Essigsäure gewöhnlicher Concentration löslich.

Daher giebt eine Albuminlösung, wenn sie mit einer der gewöhnlichen Mineralsäuren in einem gewissen Ueberschuss versetzt wird, einen Niederschlag, mit Essigsäure aber nicht. Nicht alle Mineralsäuren fällen das Protein (Albumin) gleich gut; von der Salzsäure ist am Meisten erforderlich, um den Niederschlag von Acidalbumin zu erzeugen, von der Salpetersäure braucht man dagegen nach Molekülen am Wenigsten (Huppert). Die Salpetersäure fällt daher das Albumin am Besten. Das gefällte Acidalbumin löst sich in viel Wasser, ebenso in einem sehr grossen Ueberschuss der Säure wieder auf, in der Wärme leichter als in der Kälte.

---

1) Soyka, Pflüger's Archiv 12. 351. 1876.
2) P. Panum, Virchow's Archiv 4. 428. 1852.

Auch durch Phenol wird das Eiweiss gefällt, während aber natürliche Eiweisslösungen nur mit nahezu gesättigter wässriger Phenollösung Niederschläge geben und zwar, wie es nach Zapolsky [1]) scheint, nicht mit dem Albumin, sondern mit den in jenen enthaltenen Globulinen, wird eine natürliche Eiweisslösung bei Gegenwart von Essigsäure auch durch wenig Phenol gefällt.

C. *Nachweis.* Für klinische Zwecke nimmt man beim Aufsuchen von Albumin auf das gleichzeitig vorhandene Globulin, da beide vielfach die gleichen Reactionen geben, zumeist keine Rücksicht. Die im Folgenden zunächst angeführten Proben für den Nachweis von Eiweiss im Harn beziehen sich daher auf ein Gemisch beider Substanzen. Von den aufgezählten Reactionen zeigen die sehr empfindlichen auch die im normalen Harn enthaltenen Spuren an.

Für den Nachweis geringer Mengen Eiweiss soll der Harn klar sein; sicher klar erhält man ihn beim Filtriren durch Asbest.

Ueber das Verhalten des bei der physiologischen Albuminurie vorhandenen Eiweisskörpers und den Nachweis desselben vergleiche IV., die mucinähnliche Substanz.

1. Fällen als coagulirtes Eiweiss (Kochprobe). Handelt es sich um den Nachweis nicht minimaler Spuren von Eiweiss im Harn so erhitzt man eine Probe des Harns im Reagensglas bis zum Sieden und versetzt sie dann, gleichgiltig ob während des Kochens ein Niederschlag entstanden ist oder nicht, mit etwas concentrirter Salpetersäure bis zur stark sauren Reaction, wozu man in gewöhnlichen Fällen nicht mehr als 0,05—0,1 vom Volumen des Harns braucht. Zeigt der Harn darnach einen flockigen Niederschlag, so darf die Gegenwart von Eiweiss als erwiesen betrachtet werden.

Eiweisshaltiger Harn kann allerdings und wird in den meisten Fällen beim Kochen für sich einen Niederschlag geben, welcher aus coagulirtem Eiweiss besteht. Aber nicht jeder Harn, welcher beim Kochen für sich einen Niederschlag giebt, enthält Eiweiss. Schwach alkalischer oder amphoterer Harn kann beim Kochen einen Niederschlag von normalem Kalkphosphat (vgl. S. 26) liefern, der eben so flockig ist, wie ein Eiweissniederschlag und sich in seinem Aussehen durchaus nicht von Eiweiss unterscheidet. Einen Phosphatniederschlag erkennt man aber an seiner Löslichkeit in Säuren als solchen, und wählt zu dieser Prüfung concentrirte Salpetersäure, weil ein mässiger Ueberschuss von dieser einen Albuminniederschlag ungelöst lässt.

Dass im alkalischen Harn enthaltenes Eiweiss beim Kochen als Albuminat in Lösung bliebe, ist nicht gerade wahrscheinlich, weil das Albuminat beim Kochen als Kalk- und Magnesiaverbindung ausfallen würde. In einem mit etwas Säure, namentlich Essigsäure, versetzten Harn kann dagegen Eiweiss beim Kochen in Lösung bleiben. In beiden Fällen wird es durch Salpetersäure niedergeschlagen.

Die mucinartige Substanz des Harns, welche auch als Begleiterin des Eiweisses auftritt, scheidet sich auf Zusatz von Essigsäure zu dem kalten Harne als homogene Trübung, aus dem noch heissen Harn als stärkere Trübung oder in Flocken aus, wird aber durch Salpetersäure (oder andere Mineralsäuren) in Lösung erhalten.

---

[1]) N. Zapolsky, Hoppe-Seyler's med. chem. Untersuchungen. 1871. 557.

Setzt man einem schwach eiweisshaltigen Harn, der beim Kochen klar geblieben ist, die Salpetersäure nur tropfenweise zu, so verschwindet der Niederschlag anfangs wieder beim Umschütteln der Flüssigkeit, oder es braucht anfangs auch gar kein Niederschlag zu entstehen. Jeder Eiweissharn zeigt diese Erscheinung, wenn man ihn mit dem fünffachen Volumen Wasser verdünnt hat. Ein Niederschlag tritt dagegen auf, entweder wenn der Harn so reich an Salzen ist, dass das gebildete Acidalbumin nicht in Lösung gehen kann, oder wenn die Flüssigkeit mit so viel Salpetersäure versetzt wird, dass das Acidalbumin nun in der Säure unlöslich ist.

Bei der Verwendung dieser Eiweissprobe können kleine Mengen Albumin dem Nachweis entgehen, weil sich auch das coagulirte Albumin in der heissen Salpetersäure unter Zersetzung theilweise löst (B. 7. c.). Man muss sich daher vollends hüten, den Harn nach dem Zusatz der Salpetersäure noch weiter zu kochen oder ihn schon vor dem Kochen mit Salpetersäure zu versetzen.

Bei der Untersuchung des Harns nach der in Rede stehenden Methode werden Eiweisssubstanzen ausgeschlossen, welche im normalen oder pathologischen Harn auftreten können, der im normalen Harn enthaltene mucinähnliche Körper, weil er durch den starken Zusatz von Salpetersäure in Lösung erhalten wird, und die Albumose, weil ihr salpetersaures Salz wenigstens so lange im Harn gelöst bleibt, als derselbe noch heiss ist.

Dagegen können nach diesem Verfahren im Harn Niederschläge auftreten, die nicht aus Eiweiss bestehen: Harnsäure oder harnsaure Salze im concentrirten normalen Harn, und eigenthümliche unlösliche Säuren (Harzsäuren) nach innerlicher oder äusserer Anwendung von Harzen (Terpentin, Benzoë), Balsamen (Copaiva-, Peru-, Tolubalsam, Cubeben, Storax, Santelholzöl), Petroleum. Auch Gallenfarbstoff kann, worauf Grocco[1]) aufmerksam macht, aus stark icterischen Harnen ausfallen. Diese Niederschläge lassen sich jedoch vom Eiweiss unterscheiden.

a. Die Harnsäure und die harnsauren Salze fallen, wenn sie es überhaupt thun, aus dem Harn meist als gefärbte Pulver aus; man braucht also nur dann an der Gegenwart von Albumin zu zweifeln, wenn der Niederschlag nicht flockig ist. Um sich zu versichern, ob der Niederschlag aus Eiweiss besteht, filtrirt man ihn ab und unterwirft ihn einer der Farbenreactionen (dieser § F. S. 432), am Besten der Biuretreaction, oder der Probe von Adamkiewicz, oder versucht ihn in warmer Essigsäure zu lösen, und prüft die Lösung mit Ferrocyankalium auf Eiweiss. Verdünnen des Harns auf das drei- oder vierfache Volumen vor der Probe kann die Ausscheidung der Harnsäure hintanhalten. Da es sich aber in diesen zweifelhaften Fällen nur um sehr geringe Mengen von Eiweiss handeln kann, so prüft man zweckmässig eine neue Probe nach C. 2. b. β. oder 3.

b. Die organischen Säuren (Harzsäuren), welche statt oder neben Eiweiss aus Harn ausfallen können, unterscheiden sich vom coagulirten Albumin leicht durch ihre Löslichkeit in Alkohol. Versetzt man den Harn nach dem Kochen mit $^1/_3$ Vol. Salpetersäure, so rührt nach Alexander[2]) eine Trübung nur von Eiweiss her, die Harzsäuren bleiben in Lösung.

c. Der aus icterischem Harn ausfallende Gallenfarbstoff besteht vorwiegend aus Biliverdin, und dieses ist in Alkohol löslich.

2. Fällung als Acidalbumin.

a. Durch concentrirte Salpetersäure (Heller'sche Probe[3]).

Man schichtet den Harn vorsichtig auf concentrirte Salpetersäure so dass sich die Flüssigkeiten nicht mischen. Enthält der Harn Al-

---

[1]) Grocco, Rev. gener. ital. di clin. med. 1891; Centralbl. f. klin. Med. **13**. 1892.
[2]) C. Alexander, Deutsche med. Wochenschr. **14**. 323. 1892; Ztschr. f. analyt. Ch. **33**. 121.
[3]) Heller, Archiv f. physiol. u. pathol. Chem. u. Mikroskopie **5**. 169. 1852.

bumin, so bildet sich an der Grenzschicht beider Flüssigkeiten eine nach oben und unten scharf begrenzte, ringförmige Trübung.

Die Versuchsanordnung ist bei der Heller'schen Probe insofern günstig für das Gelingen des Albuminnachweises, als das Acidalbumin an der Stelle, wo es gebildet wurde, sogleich auf so viel Säure trifft, dass es unlöslich bleibt.

Die Probe ist empfindlich, es lassen sich mit ihr noch Spuren Eiweiss erkennen (25 mg im Liter nach Almén), doch entgehen im Harne nach Mörner (S. 416) Mengen bis zu 78 mg im Liter dem Nachweis. Fast ausnahmslos zeigt der Harn nach Mörner[1]), auch wenn der Eiweissring in der Grenzschicht fehlt, eine 0,5—1 cm über dieser gelegene schwache ringförmige oder diffuse Trübung, die sich bisweilen auch gegen die Salpetersäure erstreckt. Sie rührt her von der mucinähnlichen Substanz und kann, in harnsäurereichen Harnen, auch herrühren von der Harnsäure. Verdünnt man den Harn vor der Probe mit 2—3 Vol. Wasser, so bleibt der Uratniederschlag aus, während die durch die mucinähnliche Substanz bedingte Trübung bestehen bleibt oder bisweilen selbst deutlicher hervortritt. Diese Niederschläge kommen durch das schwache Ansäuern des Harns zu Stande.

Durch die Probe werden auch die Albumosen und die Harzsäuren gefällt. — In sehr concentrirten Harnen kann ein Niederschlag von salpetersaurem Harnstoff auftreten; derselbe ist im Gegensatz zum Harnsäureniederschlag deutlich krystallisirt und bleibt nach nur mässigem Verdünnen des Harns vor der Probe aus. — Die farbigen Ringe, welche neben dem Niederschlag auftreten, haben mit der Eiweissreaction nichts zu thun.

b. Fällung durch Neutralsalze aus saurer Lösung. Dafür sind folgende Vorschriften vorhanden.

α. Versetzt man eine Eiweisslösung mit Essigsäure bis zu stark saurer Reaction und mit dem gleichen Volumen einer gesättigten Glaubersalzlösung (Panum S. 431) oder Magnesiumsulphatlösung oder mit mindestens so viel ($^1/_6$ Vol.) einer gesättigten Kochsalzlösung, dass das Gemisch $4^0/_0$ Kochsalzlösung enthält (Heynsius[2]), so wird beim Kochen alles Eiweiss gefällt.

Die Albumosen lösen sich in der heissen Flüssigkeit und der mucinähnliche Körper des normalen Harns wird nicht oder unvollständig niedergeschlagen. Nach Stokvis[3]) entsteht beim Kochen manchmal ein mehr oder minder deutlich flockiger Niederschlag, der kein Eiweiss ist, und aus Farbstoffen, auch Gallenfarbstoff bestehen kann.

β. Roberts[4]) empfiehlt als Reagens auf Eiweiss im Harn eine mit $5^0/_0$ Salzsäure von 1,052 Dichte versetzte gesättigte Kochsalzlösung, von welcher man dem Harn in der Kälte das gleiche Volumen hinzufügt.

Auch kann man den Harn auf die saure Salzlösung schichten, wonach bei Anwesenheit von Eiweiss an der Berührungsfläche beider Flüssigkeiten ein Nieder-

---

1) K. A. H. Mörner, Skandin. Archiv 6. 402.

2) Heynsius, Pflüger's Archiv 10. 239.

3) Stokvis, Tijdschr. voor Geneesk., Bijl. 115. 1882; Virchow-Hirsch's Jahresber. 1882. 1. 170.

4) Wm. Roberts, Lancet II. 15. 1882; Virchow-Hirsch's Jahresber. 1882. 1. 169; Zeitschr. f. analyt. Chemie 22. 628; Chem. Centralbl. 1883. 424.

schlag auftritt. Die Reaction ist nach Roberts so empfindlich wie die Heller-sche Probe, hat vor dieser aber den Vorzug, dass der Harn nicht dunkler gefärbt wird und keinen Niederschlag von Harnsäure giebt. — Durch das Reagens werden auch die Albumosen und die Harzsäuren gefällt.

γ. Ein anderes von Roberts[1]) angegebenes Reagens besteht aus einer Mischung von 1 Thl. starker Salpetersäure und 5 Thlen. gesättigter Bittersalzlösung. Es verhält sich wie die Mischung von Salzsäure und Kochsalz. Auch bei dieser Probe kann man den Harn auf die Salzlösung schichten.

Da auch das gebildete Acidalbumin in Alkohol löslich ist, so lassen sich die Harzsäuren von ihm, nicht so wie vom coagulirten Eiweiss, durch ihre Löslichkeit in Alkohol unterscheiden. Setzt man aber nach Roberts die Salzlösung dem Harn tropfenweise hinzu, so verschwindet die entstehende Trübung beim Umschütteln anfangs wieder, wenn sie aus Eiweiss besteht, während der von Harzsäuren herrührende Niederschlag dauernd ist, und auf Zusatz von überschüssigem Harn nicht wieder verschwindet.

Alexander[2]) giebt noch folgende unterscheidende Reactionen an. Auf Zusatz von 2—3 Tropfen Salzsäure zu 8—10 cc Harn fallen nur die Harzsäuren; erhitzt man die Probe unter Zusatz von noch mehr Säure, so tritt bei Gegenwart von Harzsäuren Rothfärbung ein. Essigsäure fällt das Eiweiss nicht, aber die mucinähnliche Substanz und die Harzsäuren; die Säuren sind in überschüssiger Essigsäure löslich. Man kann auch die Harzsäuren aus dem mit viel Essigsäure versetzten Harn durch Schütteln mit Aether entfernen und die rückständige Flüssigkeit dann auf Eiweiss untersuchen.

Gallenfarbstoff löst sich, wie aus dem coagulirten Harn, in Alkohol mit grüner Farbe. Erweist sich der Gallenfarbstoff bei diesen Proben störend, so soll man nach Grocco den Harn nach Zusatz von 2—3 Vol. Essigsäure einige Stunden stehen lassen und ihn erst dann, wenn das Filtrat mit Essigsäure klar bleibt, auf Eiweiss untersuchen.

3. Fällung durch specifische Reagentien.

a. Fällung durch Ferrocyanwasserstoff (S. 421). Man versetzt den Harn reichlich mit Essigsäure und darauf mit einigen Tropfen Ferrocyankalium; bei Gegenwart von Eiweiss entsteht ein dichter, weisser Niederschlag. Mit dieser Reaction lassen sich noch Spuren Eiweiss auffinden.

Von den Eiweisskörpern geben nur noch die Albumosen und das Nucleoalbumin mit Ferrocyanwasserstoff auch Niederschläge; die Niederschläge der Albumosen lösen sich aber in viel Essigsäure, namentlich in der Wärme, sowie, mit Ausnahme des der Heteroalbumose, auch in Neutralsalzlösung (Chlornatrium, Ferrocyankalium).

Trübt sich der Harn auf Zusatz von Essigsäure allein, so kann diese Trübung herrühren entweder von dem mucinähnlichen Körper des normalen Harns, was jedoch nicht selten der Fall ist, oder von den (C. 1) erwähnten Harzsäuren; diese lösen sich leicht in Alkohol. Von der mucinähnlichen Substanz befreit man den Harn, wenn man ihn unter Vermeidung eines Ueberschusses mit soviel essigsaurem Blei versetzt, dass ein flockiger Niederschlag entsteht. Das (bleifreie) Filtrat trübt sich mit Essigsäure nicht mehr und die Prüfung mit Ferrocyankalium giebt ein unzweideutiges Resultat.

---

1) Roberts, Chem. Centralbl. 1885. 412. — Maguire, Lancet, June 1886. 1082; Virchow-Hirsch's Jahresber. 1886. 1. 157.

2) C. Alexander, Deutsche med. Wochenschr. 14. 323. 1893; Ztschr. f. analyt. Ch. 33. 121.

In mit Bittersalz gesättigter Albuminlösung entsteht der Niederschlag nach Kowalewsky[1]) schwer.

b. An Stelle von Ferrocyankalium hat Mya das Nitroprussidnatrium vorgeschlagen.

c. Rhodankalium nach Zouchlos (S. 421). Das Reagens besteht aus einer Mischung von 100 cc 10 proc. Rhodankalium mit 20 cc Essigsäure. Von ihm setzt man dem Harn einige Tropfen zu. Nach Ollendorf zeigt es noch 0,005 %, nach Schick 0,007 % Eiweiss an, lässt aber nach Ollendorf eine Verwechslung mit Harnpepton zu, nach Schick zwar eine Verwechslung mit Albumosen, aber nicht mit Harnpepton. Ein Niederschlag tritt aber nach Mörner[2]) erst auf Zusatz grosser Mengen Rhodankalium ein. — Statt der Lösung hat Zouchlos eine trockne Mischung von Rhodankalium und Bernsteinsäure vorgeschlagen; mit diesen geben nach Ollendorf nur noch 0,007 % Eiweiss einen Niederschlag, und nach Schick ist die Empfindlichkeit etwas geringer, als bei Verwendung von Essigsäure.

d. Die Fällung durch Metaphosphorsäure wurde zuerst von Grigg, dann von Hindenlang[3]) zum Nachweis von Eiweiss im Harn angewandt.

Die Probe ist nach Hindenlang so empfindlich wie 1, 2b und 3a, wird aber nach Dillner durch die Heller'sche Probe (2a) übertroffen. Albumose wird gleichfalls gefällt, ebenso Harnsäure. Die Reaction scheint nicht ganz verlässlich zu sein, da auch manche gegen andere Proben eiweissfreie Harne Trübungen geben (Penzoldt, von Noorden). Sättigen der Albuminlösung mit Bittersalz schwächt nach Kowalewsky[4]) die Empfindlichkeit ab.

Man kann die Metaphosphorsäure in Substanz und in Lösung anwenden; in Lösung geht die Säure aber leicht in gewöhnliche Phosphorsäure über, durch welche Eiweiss nicht gefällt wird. Nach Blum[5]) soll diese Umwandlung langsamer erfolgen, wenn man der 10 proc. Säurelösung auf 100 cc eine Lösung von 0,03—0,05 g Manganchlorür in verdünnter Salzsäure und einige Messerspitzen Bleisuperoxyd hinzufügt und filtrirt. Die Lösung ist schön rosenroth, so lang Metaphosphorsäure als solche vorhanden ist.

e. Die Trichloressigsäure (S. 421) wendet man nach Raabe in der Weise an, dass man in 1 cc filtrirten Harn in einem engen Reagensglas ein kleines Stück der Säure wirft; bei Gegenwart von Eiweiss entsteht an der Grenze zwischen Harn und der entstandenen Lösung der Säure eine scharf abgegrenzte trübe Zone. Normaler Harn gäbe keine ähnliche Reaction; harnsäurereicher kann eine diffuse Trübung aufweisen, die aber beim Erwärmen verschwindet oder überhaupt nicht auftritt, wenn man den Harn vorher verdünnt. Die Probe soll empfindlicher sein, als die mit Metaphosphorsäure und die Heller'sche. — Kann dem Harn auch in concentrirter Lösung zugesetzt werden.

f. Salicylsulfonsäure (S. 422) kann im Harn direkt gelöst werden. Nach Roch so empfindlich wie die Heller'sche Probe (2 a),

---

1) Kowalewsky, Petersburger med. Wochenschr. 31. 1887; Jahresber. f. Thierch. 1887. 4.

2) A. Ollendorf, Deutsche Medicinalztg. 1893. 77; Ztschr. f. analyt. Ch. 33. 120. — R. Schick, Prager med. Wochenschr. 1890. 306. — K. A. H. Mörner, Skandin. Archiv 6. 369. 1896.

3) W. C. Grigg, Brit. med. Journ., May 29, 1880. 809; Jahresber. f. Thierch. 1880. 1. — C. Hindenlang, Berl. klin. Wochenschr. 1881. 205.

4) Hj. Dillner, Jahresber. f. Thierch. 1882. 209. — C. v. Noorden, Arch. f. klin. Med. 38. 222. 1885. — Kowalewsky, Petersburg. med. Wochenschr. 31. 1887; Jahresber. f. Thierch. 1887. 4.

5) L. Blum, Chem. Centralbl. 1887. 345.

zeigt nach William noch Eiweiss bei einer Verdünnung von 1 : 130 000 an. Giebt mit normalem Harn keinen Niederschlag (Roch), fällt die Harnsäure nicht (Roch, William), auch nicht die Harzsäuren (William).

g. Asaprol (S. 422). Man setzt zu 4—5 cc Harn 1—2 Tropfen Salzsäure und 10 Tropfen 10proc. Asaprollösung oder verwendet eine 10proc. Asaprollösung, welche mit 0,1 Vol. Salzsäure versetzt ist. Zeigt 0,01 % Eiweiss an.

h. Aseptol (S. 422) kommt in 33 1/3 proc. Lösung im Handel vor. Zu 5 cc Harn 15—20 Tropfen. Fällt Eiweiss noch bei 0,005 %, ist aber nicht so haltbar wie Asaprol.

i. Pikrinsäure. Tropft man normalen Harn in eine kalt gesättigte Pikrinsäurelösung, so bleibt sie klar, während nach jedem Tropfen eiweisshaltigen Harns ein weisser Niederschlag in Streifen zu Boden sinkt (Galippe). — Nach Hager mischt man Harn mit einem halben Volumen reiner Salzsäure und schichtet auf die Flüssigkeit kalt gesättigte Pikrinsäurelösung. Bei Gegenwart von Eiweiss entsteht an der Grenzzone eine Trübung, und zwar sogleich, wenn der Harn 2 % Eiweiss enthält. — G. Johnson überschichtet den Harn mit dem gleichen Vol. kalt gesättigter Pikrinsäurelösung; sie muss im Ueberschuss vorhanden sein, wenn sie fällen soll. - Esbach[1]) bediente sich früher zur Fällung des Eiweisses bei seiner Art der quantitativen Bestimmung des Eiweisses einer Mischung von 9 Vol. Pikrinsäurelösung, mit 10,5 g Pikrinsäure im Liter, und 1 Vol. Essigsäure von 1,040 Dichte, neuerdings einer Lösung von 10 g Pikrinsäure und 20 g krystallisirter Citronensäure im Liter. — Die Säure fällt alle Eiweisskörper, auch das Pepton und den mucinartigen Bestandtheil des normalen Harns, ferner die Harnsäure sowie das Kreatinin (Jaffé, S. 321 und 389) und Alkaloide (wie das Chinin Hager).

Nach Johnson sollen sich die vom Pepton, dem Mucin, Alkaloiden und Uraten herrührenden Niederschläge beim Erwärmen wieder lösen; andrerseits ist aber zu beachten, dass normaler Harn beim Kochen mit Pikrinsäure einen starken flockigen Niederschlag giebt (Huppert).

k. Die bereits von Owen Rees, neuerdings wieder von Almén empfohlene alkoholische essigsäurehaltige Tanninlösung fällt allerdings noch sehr geringe Mengen Albumin, aber sie giebt auch in normalem Harn mindestens Trübungen. Einen beträchtlichen Niederschlag erhält man nach Ott[2]) auf Zusatz Almén'scher Tanninlösung zu normalem Harn, welcher zur Hälfte mit Kochsalz gesättigt ist.

l. Phenol. Méhu verwendet zum Fällen des Eiweisses behufs quantitativer Bestimmung desselben eine Lösung von je 1 Theil krystallisirtem Phenol und käuflicher Essigsäure in 2 Theilen Alkohol von 90 %; der Harn wird auf 100 Vol. mit 2—3 Vol. Salpetersäure und 10 Vol. der Phenollösung versetzt und geschüttelt, worauf sich der Niederschlag absetzt. Schneller erfolgt die Abscheidung des Niederschlags, wenn man statt der Salpetersäure ein halbes Volumen gesättigter Glaubersalzlösung verwendet. — Ch. Meymott Tidy versetzt den Harn im Reagensglas mit 10 Tropfen Alkohol von 0,805 Dichte und 10 Tropfen Phenol, worauf sich bei Gegenwart selbst nur von Spuren Eiweiss (1 : 15 000) Flocken abscheiden sollen; oder er fügt dem Harn 15 Tropfen Alkohol zu und darauf eine Lösung von Phenol in so viel Eisessig, dass sich die Lösung mit Wasser nicht mehr trübt. — Der Eiweissniederschlag, welchen das Méhu'sche

---

[1]) Galippe, Gaz. méd. de Paris 10. 1873. 122. — H. Hager, Chem. Centralbl. 1879. 696; Ztschr. f. analyt. Chem. **19**. 382. — G. Johnson. Brit. med. Journ., May 1883. 504. 614 und October 1884; Lancet II. 18. 1882 und Decbr. 1884; Ztschr. f. analyt. Ch. **23**. 115; Virchow-Hirsch's Jahresber. 1882. **1**. 162; 1883. **1**. 257; 1884. **1**. 241. — Esbach, Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1880. 430.

[2]) Ad. Ott, Prager Ztschr. f. Heilkunde **16**. 177. 1895.

Reagens giebt, verschwindet beim Erwärmen, und gestattet keine Unterscheidung von Albumosen und Alkaloiden. Millard[1]) wendet daher ein Reagens an, welches aus 2 Gewichtstheilen krystallisirtem Phenol, 7 Eisessig und 22 Kalilauge (Normal-lauge) besteht; die Menge der Lauge soll genau eingehalten werden (sie ist der Menge des Phenols äquivalent). Man schichtet den Harn auf das Reagens. Niederschläge von Alkaloiden oder Pepton lösen sich in der Wärme und in Alkohol, Harzsäuren in Alkohol. Fällt Eiweiss noch bei 1:200000.

Reagirt der Harn nicht genügend sauer, so soll man ihn nach Ilimow mit zweifachsaurem phosphorsauren Natron ansäuern, den Mucinniederschlag sich absetzen lassen oder abfiltriren und dann 5 proc. Phenollösung zufügen. Trete darnach, auch bei Erwärmen, keine Trübung oder kein flockiger Niederschlag auf, so sei der Harn eiweissfrei. — Nach Lewis[2]) dagegen entstehen auch in ganz normalen Harnen auf Zusatz von Carbolsäure und Essigsäure flockige Niederschläge.

m. Wolframsäure und Molybdänsäure (S. 422). Sonnenschein verwendet eine mit Essigsäure (oder Phosphorsäure) stark angesäuerte Lösung eines löslichen Salzes der Säuren, Maschke eine Lösung von 30 Thl. wolframsaurem Natron und 75 Thl. 30 proc. Essigsäure in 120 Thl. Wasser, Oliver[3]) eine Mischung aus einer 20 proc. Lösung von wolframsauren Natron, einer 60 proc. Citronensäurelösung und destillirtem Wasser zu gleichen Theilen, Jaworowski eine Lösung von 1 Thl. molybdänsaurem Ammon oder wolframsaurem Natron und 4 oder 5 Thl. Weinsäure in 40 Thl. Wasser. Nach Jaworowski setzt man zu 4 cc mit Weinsäure angesäuertem Harn einige Tropfen des Reagens; Harn, der auf 200000 nur 1 Thl. Eiweiss enthält, giebt in 2—3 Sec. Trübung oder Niederschlag. Das Reagens giebt schon mit normalem Harn eine sehr deutliche Trübung (Huppert), fällt auch Harnpepton und Alkaloide, der Peptonniederschlag löst sich in der Wärme. Nach Sonnenschein löst sich der Wolframsäure-Niederschlag in Ammoniak; vorher ist die Phosphorsäure wegzuwaschen, weil sonst phosphorwolframsaures Ammon ausfällt.

n. Chromsäure (S. 422). Zusatz einiger Tropfen einer 5—10 proc. Lösung zu schwach angesäuertem eiweisshaltigen Harn bewirkt einen gelblichen flockigen Niederschlag. — Ein Peptonniederschlag löst sich in der Wärme; es können auch Harzsäuren ausfallen (Guérin).

o. Jodjodwasserstoff (S. 422) aus 2 g Jod, 4 g Jodkalium in 500 cc Wasser und 500 cc starker Essigsäure. Fällt auch Alkaloide. Tanret[4]) schreibt dem Reagens dieselbe Empfindlichkeit zu wie dem Jodquecksilberkalium (r. β.).

p. Chlorkalk (S. 422). Eine Mischung aus gleichen Volumen Harn und concentrirter Salzsäure wird mit 2—3 Tropfen gesättigter Chlorkalklösung überschichtet. An der Grenzschicht weisser Saum. Zeigt noch 0,01 % Eiweiss an.

q. Phosphorwolframsäure und Phosphormolybdänsäure sind zum Nachweis von Eiweiss im Harn nicht geeignet, weil sie viele normale Harnbestandtheile fällen (S. 255).

---

1) Méhu, Journ. de pharm. et de chimie **9**. 95. 1869; Ztschr. f. analyt. Ch. **8**. 522. — Tidy, The Lancet. 1870. **1**. 691; Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1870. 511. — Henry R. Millard, A treatise on Bright's disease of the kidneys. Sec. edition. New-York 1886. 65.

2) S. P. Ilimow, Petersburger med. Wochenschr. **26**. 1879; Ztschr. f. analyt. Ch. **19**. 382. — W. M. B. Lewis, New-York med. Record, Sept. 15. 1870. 319.

3) O. Maschke, Ztschr. f. analyt. Ch. **16**. 427. 1877. — Oliver, On bedside urine testings. London 1883, nach E. Lecorché u. Ch. Talamon, Traité de l'albuminurie. Paris 1888. 44.

4) Tanret, Journ. de pharm. et de chimie [5] **28**. 490; Ch. Centralbl. 1894. **1**. 112.

r. Quecksilbersalze.

α. Quecksilberchlorid. Nach Zouchlos giebt Quecksilberchlorid in einem Eiweissharn eine durch Essigsäure nicht verschwindende Trübung, während in normalem Harn entweder eine Trübung ausbleibt oder durch einige Tropfen Essigsäure leicht zu beseitigen ist. Mit einer Mischung von 1 Thl. Essigsäure und 6 Thl. einer 1 proc. Sublimatlösung wird zwar Eiweiss gefällt, es entsteht aber kein Niederschlag von Pepton, Harnsäure, Phosphorsäure. Schick bestätigt die Unfällbarkeit von Pepton und Albumose; das Reagens bewirkt aber in stark verdünnten Harnsäurelösungen Trübung und gestattet nur den Nachweis von 0,014 % Eiweiss. Auch Ollendorff[1]) findet die Probe nicht empfindlich genug.

Natriumquecksilberchlorid. Fürbringer[2]) schlägt ein Gemeng des Doppelsalzes von Quecksilberchlorid und Chlornatrium mit Citronensäure (in Gelatinekapseln von Apotheker Stütz in Jena) vor. Das Reagens ist fast so empfindlich, wie Tanret's Reagens, fällt im Gegensatz zu diesem Alkaloide nicht, giebt aber manchmal auch mit Harnen Trübung, in denen sich sonst kein Eiweiss nachweisen lässt. Sehr concentrirte Harne, welche Harnsäure abscheiden könnten, müssen vor der Prüfung verdünnt werden.

Spiegler's Reagens[3]) besteht aus einer Lösung von 8 g Sublimat, 4 g Weinsäure, 20 g Rohrzucker oder statt dessen, wegen der grösseren Haltbarkeit besser 20 g Glycerin, in 200 cc Wasser. Der mit einigen Tropfen Essigsäure versetzte, wenn nöthig filtrirte Harn wird auf das Reagens geschichtet. Es ist Eiweiss noch in der Verdünnung von 1 : 250 000 nachweisbar und normale Harne geben die Reaction sehr häufig. Auch Albumose ist nachweisbar, Harnpepton dagegen nicht (Wöchnerinnenharn ohne Eiweiss, aber mit Biuretprobe). Bei sehr dünnen Harnen (von 1,005 Dichte) versagt die Probe, tritt aber noch ein, wenn man den Harn vorher mit Kochsalzlösung vermischt. Jodhaltiger Harn giebt einen Niederschlag von Quecksilberjodid, ein Gehalt des Harns an Bromiden stört dagegen nicht.

Jolles[4]) verwendet eine Lösung von 10 g Sublimat, 20 g Bernsteinsäure und 10 g Kochsalz in 500 cc Wasser. Es werden 4—5 cc Harn mit 1 cc 30 proc. Essigsäure und 4 cc des Reagens geschüttelt, daneben 4—5 cc Harn mit 1 cc Essigsäure und 4 cc Wasser. Die zweite Probe ergiebt die Menge der mucinähnlichen Substanz und aus dem Vergleich dieser Probe mit der ersten erkennt man, ob der Harn Eiweiss enthält. Nach Jolles ist die Reaction noch deutlich, wenn der Harn Eiweiss im Verhältniss von 1 : 120 000 enthält. — Man kann den Harn auch auf das Reagens schichten: die Probe ist dann so empfindlich wie die von Spiegler; bei jodhaltigen Harnen tritt ein Ring von Quecksilberjodid auf.

β. Jodquecksilber-Kalium, Tanret's Reagens, auch von Bouchardat und Cardier empfohlen. Zur Herstellung desselben sollen 1,35 g Quecksilberchlorid unter Verwendung von möglichst wenig Wasser in 3,32 g Jodkalium (im Verhältniss von 1 Mol. $HgCl_2$ zu 4 Mol. KJ) gelöst, die Lösung mit 60 cc Wasser verdünnt und darauf mit 20 cc Eisessig versetzt werden. Da die entstehende Verbindung in überschüssiger Eiweisslösung löslich ist, aber nicht in überschüssigem Reagens, so setzt man das Reagens dem Harn tropfenweise bis zum Eintritt einer Trübung

---

1) C. Zouchlos, Wiener allgem. med. Ztg. **1**. 1890. 2; Ztschr. f. analyt. Chemie **29**. 380. — R. Schick, Prager med. Wochenschr. 1890. 306. — A. Ollendorff, Deutsche Medicinalzeitung 1893. 77; Zeitschr. für analyt. Chemie **33**. 120.

2) P. Fürbringer, Deutsche med. Wochenschr. 27. 1885. 467; Zeitschr. f. analyt. Chemie **25**. 285.

3) E. Spiegler, Wiener klin. Wochenschr. 1. 1892; Berichte der chem. Gesellsch. **25**. 375; Centralblatt f. klin. Med. **14**. 49. 1893; Wiener med. Blätter 38. 1894.

4) A. Jolles, Ztschr. f. physiol. Ch. **21**. 306. 1895.

oder eines Niederschlags zu. Das Reagens fällt ausser Eiweiss (und der mucinähnlichen Substanz) auch Pepton und Alkaloide. Der Eiweissniederschlag ist gallertig, unlöslich in Essigsäure, Jodkalium, Alkohol, Aether. Der Peptonniederschlag löst sich beim Erwärmen. Um Eiweiss, Pepton und Alkaloide zu trennen, säuert man mit Schwefelsäure an und kocht mit einem Ueberschuss von Valser-schem Reagens (einer mit Quecksilberjodid gesättigten 10 proc. Jodkaliumlösung), wobei der Eiweissniederschlag ungelöst bleibt. Beim Erkalten des Filtrats fallen Pepton und Alkaloide aus. Schüttelt man die Probe mit Aether, so gehen die Alkaloide mit Jodkalium in Lösung; in der rückständigen wässrigen Lösung lässt sich dann das Pepton mit dem Jodquecksilberkalium nachweisen. Nach Brasse[1]) erzeugen Xanthin, Hypoxanthin, Allantoin, Kreatin, Kreatinin mit dem Reagens keinen Niederschlag; Méhu hatte angegeben, dass auch Guanin, Xanthin und Kreatinin durch das Reagens gefällt werden.

s. Jodwismuthkalium ist nach Cohen[2]) für den Nachweis von Eiweiss im Harn empfindlicher als Kochsalz und Essigsäure, Ferrocyanwasserstoff, Pikrinsäure, Salpetersäure. Das Reagens muss in salzsaurer Lösung angewandt werden; da es beim Verdünnen mit Wasser einen Niederschlag von Jodwismuth giebt, so müssen, um einem Irrthum zu entgehen, in seiner Anwendung auf den Harn die zu seiner Lösung erforderlichen Mengen Salzsäuren ermittelt werden (vgl. S. 118).

t. Alkoholfällung. Für besondere Zwecke hat man den Harn mit (3 bis 4 Vol.) Alkohol gefällt und mit dem Niederschlag Eiweissreactionen angestellt (Farbenreactionen u. s. w.)

Ueber den Grad der Empfindlichkeit dieser Proben bei der Untersuchung von Harn sind von Lecorché und Talamon, von Vas und von Ott[3]) vergleichende Bestimmungen angestellt worden. Darnach ist die Probe von Spiegler (3. r. α.) die empfindlichste, dieser folgen mit ungefähr gleichem Werthe Trichloressigsäure (3. e.), Sulfosalicylsäure (3. f.), die Phenolprobe von Millard (3. l.), Molybdänsäure (3. m.) und Tanret's Reagens (3. r. β.); dann die Kochprobe (1), die Probe mit Ferrocyanwasserstoff (3. a) und die Heller'sche Probe (2. a.); darnach die Probe mit Neutralsalz und Säuren (Roberts 2. b.), die mit Rhodankalium und Essigsäure (3. c.), Metaphosphorsäure (3. d.) und Pikrinsäure (3. i.); die minder empfindlichen sind die Proben mit Sublimat und Essigsäure (3. r. α.), die von Jolles (3. p.) und die von Rosenbach (3. n.).

Verwechslungen mit anderen Substanzen als Eiweiss (Albumin und Globulin) werden am Sichersten durch die minder empfindlichen Proben ausgeschlossen und von diesen sind wieder die empfindlichsten die Kochprobe, die mit Ferrocyankalium und Essigsäure, mit Rhodankalium

---

[1]) Ch. Tanret, Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1877. 493; Zeitschr. f. analyt. Ch. 17. 525; Journ. de pharm. et de chimie [5] 28. 433 u. 490; Chem. Centralbl. 1894. 1. 109 und 111. — Bouchardat und Cardier, Gaz. méd. de Paris 46. 1876. — L. Brasse, Comptes rendus de la Soc. de Biol. 1887. 369; Jahresber. für Thierch. 1887. 187; Ztschr. f. analyt. Ch. 28. 757.

[2]) A. Cohen, Nederl. Tijdschr. voor Geneesk. 1889. 2. 561; Jahresb. f. Thierch. 1888. 116.

[3]) E. Lecorché u. Ch. Talamon, Traité de albuminurie, Paris 1888, 35. — R. Vas, Ungarisches Archiv f. Medicin. 1. 118. 1893. — Ad. Ott, Deutsches Archiv f. klin. Med. 53. 604. 1894.

und Essigsäure und die mit Salicylsulfonsäure. Mittelst der Spiegler'schen Probe wird auch das normale Eiweiss nachgewiesen. Für den Nachweis pathologischer Eiweissmengen genügen die Kochprobe und die mit Ferrocyanwasserstoff vollständig.

4. Nachweis von Albumin als solchem. Man fällt aus Harn, der, wenn nöthig, mit Alkalihydrat bis zur amphoteren oder sicherer bis zum Verschwinden der sauren Reaction versetzt worden ist, das Globulin nach Hammarsten durch Sättigen desselben mit Magnesiumsulphat (dieser § D. S. 419), fügt dem Filtrat reichlich Essigsäure zu und kocht. Ein dabei entstehender flockiger Niederschlag besteht aus Albumin (Hammarsten). Oder man macht nach Pohl[1]) den Harn mit Ammoniak schwach alkalisch, vermischt ihn mit seinem Volumen kalt gesättigter Ammonsulphatlösung und filtrirt nach einstündigem Stehen. Tritt auf Zusatz von mehr Ammonsulphatlösung (bis mindestens zum 1,5 fachen Volumen des Harns) abermals ein Niederschlag auf, so kann das Albumin als nachgewiesen gelten. Doch ist in beiden Fällen eine Verwechslung mit Albumosen nicht ausgeschlossen.

Auch wird dabei nach Mörner[2]) ein kleiner Theil Albumin durch die im Harn vorhandenen eiweissfällenden Säuren mit abgeschieden, was jedoch für den qualitativen Nachweis des Albumins nicht in Betracht kommt.

D. *Abscheidung.* Für manche Untersuchungen des Harns ist es nöthig, ihn vom Eiweiss (Albumin und Globulin) zu befreien, wenn er solches enthält. Es stehen dazu folgende Methoden zur Verfügung.

1. Das Albumin lässt sich zugleich mit dem Globulin bis auf sehr geringe, in gewissen Fällen für die weitere Untersuchung unwesentliche Bruchtheile durch Kochen bei passend saurer Reaction entfernen (dieser § I. B. 7. b. u. c. Seite 430).

Reagirt der Harn von Haus aus stark sauer, so wird beim Kochen schon der grösste Theil des Eiweisses coagulirt; besitzt er eine nur schwach saure Reaction oder ist er alkalisch, oder wird die vollständige Entfernung des Eiweisses beabsichtigt, so versetzt man den Harn, den alkalischen zuerst bis zum Verschwinden der alkalischen Reaction, tropfenweise mit soviel Essigsäure, bis das Filtrat einer gekochten Probe auf Zusatz von Ferrocyankalium klar bleibt. Zur Coagulation taucht man das Reagensglas mit der Probe in siedendes Wasser und kocht darnach noch auf.

2. Aus saurem Harn fällt das Eiweiss durch Zusatz von 3—4 Volumen starken Alkohols bis auf Spuren.

3. Das Albumin kann als solches zugleich mit dem Globulin durch Neutralsalze nach einer der § 43 D. S. 418 angeführten Verfahrungs-

---

1) J. Pohl, Archiv f. exper. Pathol. **20.** 426. 1886.
2) K. A. H. Mörner, Skandin. Archiv **6.** 411.

weisen vollständig abgeschieden werden, als Acidalbumin aber durch Neutralsalz und einen reichlichen Ueberschuss an Säure, wie C. 2. b.

Salkowski hat zur Abscheidung von Eiweiss aus eiweisshaltigen Flüssigkeiten überhaupt folgendes Verfahren als zweckmässig gefunden. Die Flüssigkeit wird auf 100 cc mit 20 g gepulvertem Kochsalz darauf mit dem doppelten Volumen einer Mischung von 7 Volumen gesättigter Kochsalzlösung und 1 Volumen 30 proc. Essigsäure versetzt, wiederholt stark geschüttelt und nach 15—20 Min. filtrirt. Das Filtrat ist völlig eiweissfrei. — Einfacher ist es, nach E. Ludwig[1]) den Harn auf 100 cc mit 10—15 cc gesättigter Kochsalzlösung zu versetzen, ihn mit einigen Tropfen Essigsäure deutlich anzusäuern und über freiem Feuer aufzukochen.

4. Albumin, Globulin und ein Theil der Albumosen (wenigstens, wie es scheint, die Heteroalbumose) lassen sich vollständig durch Fällen mit einem Metallsalz (Eisenoxyd, Kupfer, Blei etc.) in völlig neutraler Lösung abscheiden.

a. Schnell und in der Regel sicher führt die von Hoppe-Seyler angegebene Methode mit essigsaurem Eisenoxyd in der Modification von Schmidt-Mülheim und von F. Hofmeister zum Ziele. Nach Hofmeister wird dem Harn Natriumacetatlösung und darauf so viel concentrirtes Eisenchlorid zugesetzt, bis die Mischung eine blutrothe Färbung angenommen hat. Die nun stark saure Flüssigkeit wird alsdann mit Alkalihydrat neutralisirt und aufgekocht. Nach dem Kochen reagirt die Flüssigkeit wieder sauer. Man setzt dann noch soviel Lauge hinzu, bis die Flüssigkeit gegen empfindliches Lackmuspapier amphoter reagirt (stärker sauer als alkalisch), erhitzt zum Kochen und filtrirt nach dem Erkalten. Ist die Fällung gelungen, so darf das Filtrat bei Zusatz von Essigsäure und Ferrocyankalium weder Reaction auf Eiweiss noch auf Eisen geben. Der Zusatz von Acetat dient blos zur Fällung eines etwa in Lösung bleibenden geringen Restes von Eisenoxydsalz als basisches Acetat, und bedarf es dazu auch nur einer geringen Menge von essigsaurem Natron. Spuren der Fällung entgehendes Eiweiss beseitigen Wassermann sowie Georges[2]) in der Weise, dass sie das Filtrat mit Essigsäure ansäuern, wenig Ferrocyankalium hinzufügen, nach mehrstündigem Stehen filtriren, das überschüssige Ferrocyankalium mit essigsaurem Kupfer und den Ueberschuss von diesem mit Schwefelwasserstoff entfernen. — Auf zuckerhaltigen Harn ist das Verfahren nicht anwendbar, da dabei Eisenoxyd in Lösung bleibt. Auch bei zuckerfreiem Harn erhält man nicht immer Filtrate, welche mit Essigsäure und Ferrocyankalium keinen Niederschlag geben.

b. Der Methode a. ganz ähnlich ist das von H. Ritthausen ursprünglich für die Fällung des Caseins aus der Milch angegebene, von J. Latschenberger u. O. Schumann[3]) auf den Harn angewandte Verfahren. Es werden zu 1 Volumen Harn 2 Volumen kalt gesättigte Kupfervitriollösung und 2 Volumen Wasser hinzugefügt, die Mischung mit Natronlauge bis zur neutralen oder höchstens ganz schwach sauren Reaction versetzt, und nach einigem Stehen filtrirt.

In beiden Fällen werden die Filtrate reicher an Salzen; dies wird vermieden nach der folgenden, gleichfalls von F. Hofmeister[4]) herrührenden Methode.

---

1) Salkowski, Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1880. 689. — E. Ludwig, Wiener med. Jahrb. 1884. 606.

2) Schmidt-Mülheim, Du Bois' Archiv f. Physiologie 1880. 33. — F. Hofmeister, Ztschr. f. physiol. Chem. **4**. 263. — M. Wassermann, De la peptonurie etc. Thèse. Paris 1885. 52. — Georges, Journ. de pharm. et de chimie [5] **14**. 353; Ztschr. f. anal. Ch. **26**. 668. 1887.

3) H. Ritthausen, Journ. f. prakt. Ch. **15**. 329. 1877; Ztschr. f. analyt. Ch. **17**. 241. — J. Latschenberger u. O. Schumann, Ztschr. f. physiol. Ch. **3**. 161. 1879.

4) F. Hofmeister, Ztschr. f. physiol. Ch. **2**. 288. u. a. a. O.

c. Ist der Harn reich an Albumin, so wird er zunächst nach D. 1. von der Hauptmasse des Eiweisses befreit, das Filtrat darauf, mässig eiweisshaltiger Harn sogleich mit essigsaurem Blei nahezu ausgefällt, filtrirt, und das Filtrat mit Bleihydrat einige Minuten im Kochen erhalten, wieder filtrirt und die gewonnene Flüssigkeit mit Schwefelwasserstoff vom gelösten Blei befreit. Sie enthält von den zugesetzten Reagentien nur noch Essigsäure, die sich nöthigenfalls durch Abdampfen entfernen lässt. Das Ausfällen des Harns mit essigsaurem Blei vor dem Kochen desselben mit Bleioxyd ist darum nöthig, weil der Harn beim Kochen mit Bleihydrat direkt stark alkalische Reaction annimmt, und unter diesen Umständen noch Eiweiss in Lösung bleibt.

d. Nach Kowalewsky[1]) lässt sich das Eiweiss (aus serösen Flüssigkeiten) vollständig durch die gerade erforderliche Menge oder einen Ueberschuss von essigsaurem Uran fällen. Der Niederschlag löst sich etwas in Wasser, ferner in Mineralsäuren und organischen Säuren, leicht und vollständig in 2 proc. Essigsäure.

e. Alle diese Methoden werden in der Einfachheit der Ausführung und der Sicherheit des Resultats durch die von Devoto[2]) übertroffen. Man sättigt den Harn mit Ammonsulphat, indem man in demselben auf 100 cc 75 g von dem feingepulverten Salz in gelinder Wärme unter fleissigem Rühren zur Lösung bringt und lässt die Flüssigkeit noch 30—40 Minuten in einem Dampftopf verweilen. Albumin und Globulin werden dabei, unabhängig von der ursprünglichen Reaction des Harns coagulirt, während Albumosen zwar auch gefällt werden, beim Auswaschen des salzreichen Niederschlags aber wieder in Lösung gehen.

5. Von den specifischen Eiweissreagentien ist das Kaliumwismuthjodid von Brücke (S. 118), das Aseptol von Riegler zum Enteiweissen des Harns empfohlen worden. Phosphorwolframsäure schlägt alle Eiweisssubstanzen, mit Einschluss des Peptons, aus saurer Lösung nieder.

Vom Aseptol soll man 2—3 cc zu 20 cc Harn setzen. — Der Harn, welcher mit Phosphorwolframsäure ausgefällt werden soll, ist mit 0,1 Vol. Salzsäure zu versetzen; wird er bei der Fällung sehr verdünnt, so hat man sich zu überzeugen, dass auf nachträglichen Zusatz von Salzsäure kein Niederschlag mehr entsteht. Bei Gegenwart von Zucker wird das Filtrat blau.

II. Globulin.

A. *Vorkommen.* Im Harn findet sich das Globulin fast stets nur als Begleiter des Albumins, und zwar bei jeder Art von Albuminurie. Nur in seltenen Ausnahmefällen hat Hammarsten in seinen bisher noch nicht veröffentlichten Untersuchungen neben Albumin kaum sicher nachweisbare Spuren von Globulin im Harn gefunden, oder noch seltener (bisher nur einmal in 40 Fällen) nur Globulin und kein Serumalbumin. Dem entsprechend wechselt das Verhältniss zwischen Globulin und Serumalbumin im Harn ganz ausserordentlich; als Grenzwerthe fand Hammarsten 8,13 und 60,24 % des Gesammteiweisses an Globulin, oder, die Menge Albumin, welche auf 1 Globulin kam, bewegte sich zwischen 0,66 und 11,2; zu ähnlichen Erfahrungen über die Grösse

---

[1]) N. Kowalewsky, Ztschr. f. analyt. Ch. 24. 551.
[2]) L. Devoto, Ztschr. f. physiol. Ch. 15. 465. 1891.

dieses Eiweissquotienten gelangten in sehr zahlreichen Bestimmungen Hoffmann, Czatáry, sowie Patella[1]).

Bei Nephritis fand Hoffmann den Quotienten im Mittel zu 4,5, mit den Grenzwerthen 0,61 und 13,0, Csatáry die Grenzwerthe 0,44 und 7,23. Bei anderen Formen der Albuminurie ergaben sich ähnliche Verhältnisse. Die Erfahrungen von Hoffmann und Czatáry ergaben übereinstimmend, dass bei Besserung der Nephritis die relative Menge des Globulins abnimmt. Czatáry hat bei der genuinen Schrumpfniere und bei der Stauungsalbuminurie (Herzfehler) die höchsten Werthe für den Quotienten (28,1 und 53,2) gefunden; ferner bei der amyloiden Degeneration bei höchstem Eiweissgehalt (bis 3.3 %) den Quotienten meist unter 1,0, also relativ sehr viel Globulin. Nach Patella wird bei der Pneumonie viel, beim Typhus wenig Globulin ausgeschieden. Czatáry hat ausserdem in mehreren Fällen Albumin und Globulin bei demselben Kranken zugleich im Blutserum oder in Transsudaten bestimmt, wobei sich der Eiweissquotient im Harn immer grösser (der Gehalt an Globulin kleiner) ergab. als in den anderen Flüssigkeiten; andere Beziehungen stellten sich nicht heraus.

Das Globulin des eiweisshaltigen Harns ist ohne Zweifel, wenigstens der Hauptmenge nach, das Serum- oder Paraglobulin. Einige Thatsachen lassen aber auch die gleichzeitige Gegenwart noch eines anderen Globulins, wahrscheinlich des Fibrinogens als nicht unwahrscheinlich erscheinen.

Sicher ist das Fibrinogen in solchen Harnen in gelöster Form enthalten gewesen, welche einige Zeit nach der Entleerung Fibrin abgeschieden haben. Auf das wenigstens zeitweilige Vorkommen von nicht spontan gerinnendem Fibrinogen in Eiweissharnen scheint die niedere Coagulationstemperatur mancher derselben hinzuweisen. Gerhardt sah Eiweissharn schon bei 56° gerinnen, Brunton und Power bei 55.6°, Temperaturen, welche in auffälliger Weise mit dem Coagulationspunkt des Fibrinogens zusammenfallen (vgl. B. 4.); Führy-Snethlage schied aus Eiweissharn die Hauptmenge der Globuline durch Dialyse ab und fand, dass die rückständige (noch globulinhaltige) Eiweisslösung bei 36 bis 55° gerann, und, nachdem sie mit Wasser verdünnt worden war, bei 51—58°. In Zusammenhang hiermit steht die weitere Beobachtung Gerhardt's, nämlich dass Eiweissharn manchmal zwei verschiedene Gerinnungstemperaturen zeigt. (Vgl. I. B. S. 428). Bei seinen Versuchen, das Globulin durch Ammonsulphat aus dem Harn zu fällen, sah Pohl[2]) diese Fällung einmal schon nach Zusatz von 0.6 Vol. gesättigter Ammonsulphatlösung eintreten, während das Serumglobulin Zusatz des gleichen Volumens der Salzlösung fordert. Von näher bekannten Globulinen besitzt nur noch das Myosin einen so niedren Coagulationspunkt wie das Fibrinogen. Das Vorkommen des Fibrinogens im Harn ist wahrscheinlicher als das des Myosins, weil das Fibrinogen einen Bestandtheil des Plasmas bildet und wäre analog dem Vorkommen von Fibrinogen in der Hydrocelellüssigkeit.

Es darf dabei nicht ausser Acht gelassen werden, dass der Gehalt der Lösung an Neutralsalz einen grossen Einfluss auf die Coagulationstemperatur ausübt (S. 418), ferner dass es Serumalbumine von verschiedenen Coagulationspunkten giebt (S. 428), und dass sich die Heteroalbumose des Harns ganz (dieser § VII.), der auch im normalen Harne enthaltene mucinähnliche Körper in manchen Stücken wie ein Globulin verhält.

---

1) F. A. Hoffmann, Virchow's Archiv 89. 271. 1882. — A. Czatáry, Archiv f. klin. Med. 47. 159. 48. 358. 1891. — V. Patella, Ann. di chim. e farmacol. 8. 190. 1888; Jahresb. f. Thierch. 1888. 30.

2) J. Pohl, Archiv f. exper. Pathol. 20. 432.

B. *Eigenschaften.* Die beiden Globuline unterscheiden sich hauptsächlich durch ihre Löslichkeitsverhältnisse, ihre Gerinnungstemperaturen und dadurch, dass das Fibrinogen unter dem Einfluss des Fibrinferments zu Fibrin wird.

Die Kenntniss der im Blutplasma enthaltenen, von Panum entdeckten Globuline ist namentlich durch die Untersuchungen von Hammarsten[1]) geklärt und wesentlich bereichert worden.

1. Beide sind amorph, das Serumglobulin körnig, das Fibrinogen flockig; nach dem Abpressen zwischen Papier ist das Serumglobulin bröcklich, das Fibrinogen dagegen bildet eine zähe elastische Masse. Beide sind in Wasser, sowie in Alkohol unlöslich. — Die Lösungen der Globuline (2 und 3) lenken die Ebene des polarisirten Lichtes nach links ab und diffundiren durch Pergamentpapier so gut wie gar nicht. Für das Paraglobulin in Salzlösung ist nach Fredericq $[\alpha]_D = -47,8^0$ bis $-48,2^0$, für das Fibrinogen nach Mittelbach[2]) $= -52,5^0$.

Fredericq's Bestimmungen beziehen sich auf das Paraglobulin in Salzwasser aus dem Serum vom Rind, Pferd, Kaninchen und Hund. Hammarsten fand die spec. Drehung ungefähr zu -47^0. Haas[3]) bestimmte sie für Serumglobulin in verdünntem Natroncarbonat zu $-59,8^0$.

2. Sie lösen sich in Neutralsalzlösungen, ihre Löslichkeit in Salzlösungen hängt aber ab von der Concentration der Salzlösung und von der Art des gelösten Salzes.

In Kochsalzlösung von 5—10% lösen sich die Globuline leicht, weniger leicht in schwächeren oder concentrirteren; wird eine Kochsalzlösung der angegebenen Concentration, welche reichlich Globulin gelöst enthält, mit Wasser stark verdünnt (auf das 10- bis 20 fache und darüber), so lässt sie Globulin ausfallen; ebenso scheidet sich Globulin ab, wenn in der globulinhaltigen Salzlösung noch mehr Kochsalz gelöst wird. Entfernt man aus einer Globulinlösung das lösende Salz durch Dialyse, so fällt gleichfalls Globulin aus.

Das Fibrinogen wird durch Sättigen seiner Lösung durch Kochsalz vollständig abgeschieden, ebenso das völlig reine Serumglobulin. Die Körperflüssigkeiten, in welchen das Paraglobulin vorkömmt (Blutserum, Transsudate), enthalten aber noch andere, nicht näher bekannte Substanzen, welche das Paraglobulin gleichfalls lösen und ihm hartnäckig anhaften; aus einer solchen Flüssigkeit frisch dargestelltes, aber noch unreines Paraglobulin wird durch Sättigen seiner Lösung mit Kochsalz nicht mehr vollständig gefällt; dagegen ist auch das minder reine Paraglobulin in einer gesättigten Lösung von schwefelsaurer Magnesia völlig unlöslich.

Beim Aufbewahren unter Wasser, sowie beim Auswaschen auf dem Filter büssen die Globuline an dem Vermögen, sich in Salzlösungen zu lösen, ein, das

---

1) O. Hammarsten, Untersuchungen über die Faserstoffgerinnung, Nova acta reg. soc. scient. Upsalensis. Ser. III. Vol. X. 1; Pflüger's Archiv **17**. 413; **18**. 38; **19**. 563; **22**. 431; Ztschr. f. physiol. Ch. **8**. 467. 1884.

2) L. Fredericq, Archives de Biologie **1**. 462. 1880; **2**. 379. 1881; Comptes rendus **93**. 465. — F. Mittelbach, Ztschr. f. physiol. Ch. **19**. 289. 1894.

3) Hammarsten, Ztschr. f. physiol. Ch. **9**. 449. 1885. — Haas, Pflüger's Archiv **12**. 405. 1876.

Fibrinogen viel schneller als das Paraglobulin. — Wird eine Lösung von Fibrinogen oder von reinem Paraglobulin in Salzlösung im Vacuum verdunstet, so ist der trockene Rückstand in Salzwasser nur theilweise löslich. Enthalten dagegen die Globuline noch die unbekannten lösenden Substanzen der Körperflüssigkeiten beigemengt, so lösen sie sich nach dem Verdunsten im Vacuum in Salzwasser wieder auf.

3. Die Globuline lösen sich in verdünnten Alkalihydraten, in den Lösungen der kohlensauren Alkalien und des einfach sauren (und normalen) Alkaliphosphats; aus diesen Lösungen werden sie durch Säuren, auch durch Kohlensäure, wieder unverändert gefällt, aber nur unvollständig, weil das entstehende Salz noch Globulin in Lösung hält. Auch eine von zweifach saurem Phosphat schwach sauer reagirende Globulinlösung giebt mit Kohlensäure einen Niederschlag. — Alkohol fällt die Lösung gleichfalls; der Niederschlag wird bei längerem Verweilen unter Alkohol unlöslich.

Ebenso lösen sich die Globuline leicht in verdünnten Säuren, nicht so leicht, aber gleichfalls auch in Kohlensäure; in Berührung mit der Säure werden sie aber schnell in Protein (Acidalbumin) (dieser § I. B. 7. e. S. 431) umgewandelt.

Leitet man in eine Lösung von Paraglobulin in sehr wenig Alkali Kohlensäure, so entsteht alsbald ein Niederschlag von Paraglobulin; dieser Niederschlag löst sich leicht und vollständig in Salzwasser. Bei weiterem Einleiten von Kohlensäure geht dieses Globulin wieder theilweise in Lösung; lässt man aus der Lösung die Kohlensäure abdunsten, so fällt die in Lösung gegangene Substanz aus, hat aber nun ihre Löslichkeit in Salzwasser verloren.

Auch aus seinen Lösungen in Neutralsalzlösungen kann das Globulin durch Säuren (auch Kohlensäure) gefällt werden; der Niederschlag ist aber kein Globulin mehr, sondern gleichfalls Protein.

Die Fällbarkeit des Globulins durch Kohlensäure, auch aus Harn, hat zu der Verwechslung des Globulins mit dem Paralbumin und zu der irrigen Annahme geführt, dass Paralbumin im Harn vorkomme. — Da das Globulin durch Kohlensäure in Protein verwandelt wird, so könnte es geschehen, dass bei stundenlangem Einleiten von Kohlensäure in den Harn der Niederschlag nicht mehr ganz in Neutralsalzen löslich wäre, ohne dass man deshalb Grund zu der Annahme hätte, es sei im Harn schon ursprünglich Protein enthalten gewesen.

Eine Lösung von Globulin in der gerade erforderlichen Menge von Natriumcarbonat giebt mit einer (schwach alkalischen) wässrigen Albumoselösung nach Kutscher[1]) einen Niederschlag, welcher sich in überschüssigem Alkali und in Säure löst.

4. Eine Lösung von Fibrinogen in Salzwasser gerinnt bei 52 bis 55°, die in einer zur Lösung gerade hinreichenden Menge Alkali bei 56—58°; der aus Alkalifibrinogen erhaltene Niederschlag löst sich beim Kochen ganz oder theilweise und das Fibrinogen wird dabei zu Protein. Eine Lösung von Paraglobulin in Salzwasser (5—10 % Chlornatrium) coagulirt dagegen bei 75°.

---

[1]) Fr. Kutscher, Ztschr. f. physiol. Ch. **23**. 117. 1897.

Die Gerinnungstemperatur des Paraglobulins schwankt in weiteren Grenzen als die des Fibrinogens, nämlich zwischen 68 und 80°; die höheren Gerinnungstemperaturen beobachtet man bei geringem Gehalt der Lösung an Paraglobulin oder Salz und bei schnellem Erhitzen. Ein hoher Salzgehalt setzt nach Limbourg[1]) den Coagulationspunkt des Fibrinogens auf 45—50°, den des Paraglobulins auf 65° herab.

5. Beim Erhitzen mit Wasser liefert das Paraglobulin nach Mörner[2]) eine dem thierischen Gummi ähnliche aber stickstoffhaltige Substanz (vgl. S. 143), welche beim Erwärmen mit 3—5 % Salzsäure auf dem Wasserbad einen Körper giebt, der Kupferhydrat in alkalischer Lösung reducirt, Wismuthoxyd dagegen nicht oder nur schwach, optisch inactiv ist und ein bei 170—172° schmelzendes Osazon bildet. Diese zuckerähnliche Substanz wird auch direkt aus dem Globulin beim Erwärmen mit Salzsäure erhalten.

C. *Nachweis.* Neben Albumin in Lösung befindliches Globulin lässt sich nur dadurch nachweisen, dass man es von dem Albumin trennt.

Man hat sich dazu verschiedener Methoden bedient.

a. Das am Frühesten angewandte aber sehr mangelhafte Verfahren bestand darin, dass man den Harn mit Wasser bis zur Dichte von 1,002—1,003 verdünnte (einen Harn von 1,012, also auf das 6- oder 4 fache) und vorsichtig mit stark verdünnter Essigsäure versetzte oder in denselben längere Zeit Kohlensäure einleitete. J. C. Lehmann[3]) war der erste, welcher nachwies, dass der durch Kohlensäure in einem Eiweissharn entstehende Niederschlag aus Globulin besteht. Oefter trübt sich der Harn schon beim Verdünnen; die Trübung wird durch die Behandlung mit Säure stärker, aber nur in seltenen Fällen setzt sich aus dem Harn auch bei stunden- und tagelangem Stehen so viel Niederschlag ab, dass er von der Flüssigkeit getrennt werden kann. Harnsäure ist in dem Niederschlag aber nicht enthalten (Lehmann). — Mittelst dieser Methode kann aus dem Harn wegen der lösenden Wirkung der Harnsalze nur ein kleiner Bruchtheil des in ihm enthaltenen Globulins gewonnen werden.

b. Eine viel bessere Ausbeute an Globulin gewährt die Dialyse in Pergamentpapierschläuchen[4]) (Heynsius, Führy-Snethlage[5]); das Verfahren ist aber umständlich und verbraucht viel Zeit; auch schliesst es eine Verunreinigung des Globulins mit Albumose, wenn diese zugleich vorhanden wäre, nicht aus.

Das Globulin beginnt sich aus dem Harn in Flocken oder auch als eine dünne, dem Papier fest anliegende Schicht abzuscheiden, wenn der Salzgehalt des Harns auf eine gewisse untere Grenze gesunken ist, und die Abscheidung des Globulins schreitet in dem Maasse fort, als die Salze entfernt werden; das Albumin dagegen bleibt in Lösung. Ist auch bei anhaltender Dialyse mit destillirtem Wasser, zu einem Zeitpunkt, in welchem sich im Aussenwasser schon blos Spuren von Salz nachweisen lassen, noch kein Niederschlag im Dialysator entstanden, so könnte das Globulin in Verbindung mit einem Alkali in Lösung geblieben sein und es empfiehlt sich in solchen Fällen, die Flüssigkeit aus dem Dialysator herauszugiessen und in dieselbe Kohlensäure zu leiten. — Die dialysirte Flüssigkeit, in welcher der Globulinniederschlag entstanden ist, enthält noch das Albumin gelöst; man entfernt dieses, wenn es darauf ankommt, durch Auswaschen des Niederschlags (mittelst Decantiren, wenigstens im Anfang).

---

1) Ph. Limbourg, Ztschr. f. physiol. Ch. **13**. 450. 1889.

2) K. A. H. Mörner, Centralbl. f. Physiol. **7**. 581. 1893.

3) J. C. Lehmann, Virchow's Archiv **36**. 125. 1866.

4) Von Karl Brandegger in Ellwangen (Württemberg) zu beziehen.

5) Heynsius, Archiv f. klin. Medicin **22**. 435. 1878. — Führy-Snethlage, daselbst **17**. 418. 1876.

c. Das gesammte im Harn enthaltene Globulin (Serumglobulin und Fibrinogen) lässt sich dagegen durch Fällen desselben mittelst eines dazu geeigneten Neutralsalzes (dieser § D. S. 418) gewinnen, wozu sich nach Hammarsten[1]) vollständige Sättigung der Lösung mit Magnesiumsulphat, nach Pohl[2]) Sättigen derselben bis zur Hälfte mit Ammonsulphat empfiehlt.

Das Verfahren ist im Grunde dasselbe wie das zum Nachweis des Albumins als solchem dienende (dieser §. I. C. 4. S. 441). Weil dabei aus saurem Harn auch Albumin niedergeschlagen wird, so macht man ihn vorher mindestens amphoter, noch besser schwach alkalisch und filtrirt einen dadurch etwa entstehenden Niederschlag vor dem Salzzusatz ab.

Nach Hammarsten wird in den Harn fein gepulverte schwefelsaure Magnesia (120 g krystallisirte auf 100 cc) eingetragen, bis sich von dem Salze auch nach längerer Berührung mit dem Harn nichts mehr auflöst, die Flüssigkeit sammt dem flockigen Niederschlag auf ein Filter gebracht, der Salzbodensatz mit gesättigter Lösung von schwefelsaurer Magnesia aufgerührt, diese Flüssigkeit ebenfalls filtrirt und das Filter mit gesättigter Bittersalzlösung gewaschen; ist es erforderlich, das Globulin vollständig vom Albumin zu befreien, so muss das Waschen so lange fortgesetzt werden, bis das Filtrat nach Zusatz von Essigsäure durch Kochen nicht einmal opalin wird. Dem Auswaschen wird bald durch auskrystallisirtes Salz ein Ende gesetzt.

Pohl versetzt den alkalisch gemachten Harn mit seinem Volumen kalt gesättigter Ammonsulphatlösung, filtrirt nach einstündigem Stehen und wäscht den Niederschlag mit halbgesättigter (mit ihrem Vol. Wasser verdünnter gesättigter) Ammonsulphatlösung nach, bis im Filtrat mit Essigsäure und Ferrocyankalium kein Eiweiss mehr nachweisbar ist.

Nach beiden Methoden werden auch Albumosen, sowie die mucinähnliche Substanz ganz oder theilweise gefällt.

Will man die Niederschläge frei von Salzen haben, so müssen sie noch der Dialyse unterworfen werden.

In den meisten Fällen wird es für den Nachweis von Globulin genügen, dass ein Niederschlag entsteht. Eine Verwechslung von Magnesiumphosphat mit Globulin hat man bei dem ersten Verfahren nicht zu fürchten, weil, wie ich bemerkt habe, sich der dabei anfangs entstehende Niederschlag von Magnesiumphosphat in der gesättigten Bittersalzlösung leicht löst. Bei dem Verfahren von Pohl lässt sich eine Verwechslung mit Phosphat dadurch ausschliessen, dass man den mit Ammoniak alkalisch gemachten Harn einige Zeit stehen lässt und den dann gebildeten Niederschlag abfiltrirt; harnsaures Ammon, welches gleichfalls ausfallen kann, scheidet sich im Gegensatz zum Globulin allmählich als gefärbter Niederschlag ab.

Paton[3]) empfiehlt zum Nachweis von Globulin den Harn schwach alkalisch zu machen und (nach dem Filtriren) auf eine gesättigte Bittersalzlösung zu schichten; ein weisser Ring zeigt das Globulin an.

---

[1]) Hammarsten, Pflüger's Archiv **17**. 431. u. 447; **22**. 437 und briefliche Mittheilung.

[2]) Pohl, Archiv f. exper. Pathologie **20**. 426. 1886.

[3]) N. Paton, Edinburgh med. Journ. **152**, December 1888. 522.

Das Globulin erkennt man daran, dass es sich, noch salzhaltig, in Wasser löst. Das durch Dialysiren salzfrei gewonnene Globulin löst sich in 5—10proc. Kochsalz- oder Bittersalzlösung, oft nicht vollständig, weil es zum Theil in die unlösliche Modification übergegangen ist; dagegen löst es sich immer leicht in verdünnten Alkalihydraten und verdünnten Alkalicarbonaten, sowie in verdünnten Säuren. Wenn sich ein solcher Niederschlag, wie Protein, blos in Säuren oder Alkalien löst, hat man darum noch keinen Grund zu der Annahme, der Harn habe Protein enthalten.

Weitere Eiweissreactionen lassen sich mit dem vermeintlichen Globulin nur nach völliger Entfernung des Albumins anstellen.

Von der mucinartigen Substanz des Harns unterscheiden sich die ächten Globuline dadurch, dass die Lösung jener Substanz einen in überschüssiger Essigsäure sehr schwer löslichen, diese einen leicht löslichen Niederschlag geben.

Von der Heteroalbumose lässt sich das Globulin durch die Bestimmung der Coagulationspunkte und dadurch unterscheiden, dass das Globulin zu Protein wird, die Albumose dagegen nicht.

a. Zur Ermittelung des Coagulationspunktes löst man den noch salzhaltigen Niederschlag in wenig Wasser. Die im Harn vorkommende Albumose zeigt das Maximum der Trübung bei 59—60°, das in Salzwasser gelöste Fibrinogen bei 55°, das Serumglobulin (wie das Albumin) bei 75°.

b. Der Coagulationsniederschlag wird mit 1 proc. Natriumcarbonatlösung im Wasserbad digerirt. Entsteht bei der Neutralisation der so hergestellten Lösung ein in Salzwasser unlöslicher Niederschlag, so bestand der Eiweisskörper aus Globulin; die Albumose bleibt beim Neutralisiren in Lösung oder wird vom Salzwasser wieder gelöst. — Eine Lösung der ursprünglichen Substanz in Salzwasser wird mit Salzsäure versetzt, ein entstehender Niederschlag nach einiger Zeit abfiltrirt, abgepresst und in Wasser gelöst. War die fragliche Substanz Globulin, so giebt sowohl die Lösung des Salzsäureniederschlags in Wasser als die von ihm abfiltrirte Flüssigkeit beim Neutralisiren einen in Salzwasser unlöslichen Niederschlag. — Es ist für beide Proben überflüssig, das vermeintliche Globulin vorher albuminfrei zu waschen, wenn viel desselben vorliegt.

Zur Unterscheidung des Fibrinogens und des Paraglobulins lassen sich ihre Gerinnungstemperaturen, das Verhalten beider gegen Kochsalzlösung und ihre Betheiligung bei der Fibrinbildung verwenden.

a. Zur Bestimmung des Coagulationspunktes dient eine Lösung des Salzniederschlags in Wasser.

b. Eine Lösung von Paraglobulin in Kochsalzwasser kann bei Zusatz des gleichen Volumens gesättigter Kochsalzlösung selbst dann noch klar bleiben, wenn sie reich an Paraglobulin ist, während schon weit schwächere Fibrinogenlösungen dabei einen Niederschlag geben. Ganz reines Paraglobulin wird aus seinen Lösungen in Salzwasser durch Sättigen der Lösung mit Kochsalz zwar ebenfalls vollständig gefällt, wie Fibrinogen, aber das frisch aus seinen natürlichen Lösungen dargestellte nicht. Eine unvollständige Fällung des Globulins durch Sättigen seiner

Lösung mit Kochsalz liesse demnach die Gegenwart von Paraglobulin annehmen; als unvollständig ergiebt sich die Fällung, wenn sich das Filtrat beim Kochen noch trübt.

c. Eine Fibrinogenlösung liefert in Gegenwart eines Calciumsalzes mit Fibrin ferment (Blut) Fibrin, während das Paraglobulin bei der Fibrinbildung unbetheiligist; lässt sich ein spontan nicht gerinnendes Transsudat (Hydrocelelflüssigkeit) durcht Auflösen von Globulin aus Harn in demselben (bei 40°) zur Gerinnung bringen, wie in der That beobachtet wurde (Führy-Snethlage), so beweist der Versuch nicht die Gegenwart des Paraglobulins, sondern nur die des Fibrinferments.

III. Fibrin.

A. *Vorkommen.* Das Fibrin kann im Harn hauptsächlich bei Blutungen in den Harnwegen sowie bei Chylurie auftreten; auch bei croupöser Entzündung der Harnorgane in Folge des Gebrauchs von Cantharidenpflastern ist es wahrgenommen worden (Senator); Fr. Müller giebt an, in einem Fall von parenchymatöser Nephritis gegen das tödtliche Ende Fibrinbildung gesehen zu haben. Es scheidet sich dann entweder schon in der Blase ab oder nach der Entleerung des Harns und bildet ein gelatinöses Coagulum oder festere Fasern und Flocken.

B. *Eigenschaften.* Reines Fibrin, wie es von Hammarsten analysirt wurde, ist in der elementaren Zusammensetzung nur wenig vom Fibrinogen verschieden. Es quillt in schwachen Laugen und Säuren nur zu einer festen Gallert auf, löst sich aber in denselben in der Kälte ebenso wenig, wie in Neutralsalzlösungen; die schwachen Säuren und Laugen lösen es aber bei längerer Einwirkung in der Wärme. Aus serumglobulinhaltigen Flüssigkeiten abgeschiedenes Fibrin enthält Serumglobulin eingeschlossen.

C. *Nachweis.* Wenn sich Gerinnsel im Harn vorfinden, so filtrirt man sie durch ein dichtes Tuch vom Harn ab und knetet sie, um das anhaftende Serumglobulin zu entfernen, zunächst in oft erneuerter 5—10 proc. (thymolisirter) Kochsalzlösung, bis die Lösung keine Eiweissreactionen mehr giebt. Bleibt dabei Gerinnsel übrig, so spricht diese Thatsache schon sehr für die Gegenwart von Fibrin. Der Rückstand darf sich in der Kälte nicht in verdünnten Alkalien oder verdünnten Säuren lösen, muss aber bei längerer Digestion in der Wärme in 1 proc. Sodalösung oder 0,5 proc. Salzsäure in Lösung gehen und die Lösung dann Eiweissreactionen geben.

IV. Die mucinähnliche Substanz.

A. *Vorkommen.* Im Harn kommen fast immer kleine Mengen eines Eiweisskörpers vor, welcher früher gewöhnlich für Mucin, auch für Paralbumin, Globulin, vor Maixner auch für Pepton gehalten wurde, von mir aber wegen seiner auffallenden Aehnlichkeit mit dem Nucleoalbumin der Galle, und darauf auch von Obermayer auf Grund derselben Thatsachen, als Nucleoalbumin bezeichnet worden ist. Vom gewöhnlichen Harneiweiss unterscheidet es sich u. A. dadurch, dass es durch Essigsäure gallertartig gefällt wird. K. A. H. Mörner[1]) hat nun nachgewiesen, dass es sich bei normalem Harn um weiter Nichts als um Albumin handelt, welches in essigsaurer Lösung durch gewisse im Harn in kleiner Menge vorkommende Säuren: Chondroitin-

1) Huppert, Dieses Werk, 9. Aufl. 277. 1890. — F. Obermayer, Centralbl. f. klin. Med. **13**. 1. 1892. — K. A. H. Mörner, Skandin. Arch. **6**. 332. 1895.

schwefelsäure, Nucleinsäure und Taurocholsäure, niedergeschlagen wird, um Chondroalbumin, Nucleoalbumin und taurocholsaures Albumin. Von diesen Säuren findet sich die Chondroitinschwefelsäure immer im Harn, und zwar in erheblich grösserer Menge als die Nucleinsäure, welche manchmal sogar zu fehlen scheint; die Taurocholsäure tritt im normalen Harn selten auf, ist dagegen im icterischen Harn hervorragend an der Bildung solchen Eiweissniederschlags betheiligt. Mörner hat alle eiweissfällende Substanz aus normalem Harn durch Albumin abgeschieden und die Niederschläge analysirt, wobei sich ergab, dass ausser der Chondroitinschwefelsäure und der Nucleinsäure keine andere Substanz in erheblicher Weise an der Bildung der Niederschläge betheiligt sein kann.

Da drei verschiedene saure Bestandtheile des Harns in die Verbindung eingehen können, so wird es verständlich, dass die mucinähnliche Substanz nicht in allen Fällen dieselben Eigenschaften besessen hat. Auch solche Verbindungen, in denen nur eine der Säuren enthalten ist, verhalten sich je nach dem Gehalt an Eiweiss etwas verschieden; eiweissarmer Harn liefert aber eine eiweissärmere Verbindung als eiweissreicher. Es ist auch nicht ausgeschlossen, dass den erhaltenen Niederschlägen der Eiweissverbindung manchmal freies Eiweiss beigemengt war.

Mme Eliacheff hat durch eine ganz vollständige Dialyse von Harn undialysirbare, N, P und S enthaltende Substanzen erhalten, welche wohl als Verbindungen dieser Art anzusehen sind. In einem Fall von Pseudoleukämie will Jolles Nucleohiston im Harn nachgewiesen haben, aber in einem Fall von Lymphämie, in welchem der Harn Histon enthielt, konnten Kolisch und Burian[1]) durch Fällen mit Essigsäure kein Nucleohiston auffinden. Zu berücksichtigen ist ferner Heteroalbumose, dies. §. VII. 3.

Die Menge des im normalen Harn enthaltenen Albumins reicht nicht aus, um alle eiweissfällende Substanz niederzuschlagen. Gelangt mehr Eiweiss in den Harn, so nimmt auch die Menge der mucinähnlichen Substanz zu, und endlich kann das Eiweiss überwiegen. Wo eine Zunahme der mucinähnlichen Substanz beobachtet worden ist, hat es sich entweder nur um eine Steigerung der physiologischen Albuminurie gehandelt, oder um diese und vermehrte Ausscheidung eiweissfällender Substanz. Hierauf gerichtete Untersuchungen haben wesentlich nur wegen der Vermehrung der eiweissfällenden Substanz Werth. Es kommt auf die Art der Abscheidung an, ob das in geringer Menge

---

[1]) Mme. P. Eliacheff, Mém. de la Soc. de Biol. [9] 3. 71. 1891 und Ptomaine § 42, S. 408. — A. Jolles, Ber. d. chem. Gesellsch. 30. 172. 1897. — R. Kolisch u. R. Burian, Ztschr. f. klin. Med. 29. 378. 1896.

im normalen Harn enthaltene Eiweiss als mucinähnliche Substanz oder in anderer Art nachgewiesen wird.

Aus dem Liter normalem Morgenharn von 10 gesunden Männern fällte Mörner[1]) direkt im Mittel 41 mg (25—89 mg) mucinähnliche Substanz; aus dem Filtrat wurden durch Zusatz von Serumalbumin im Mittel noch 54 mg (32—73 mg) gewonnen. Die gesammte im Liter Harn enthaltene Menge eiweissfällender Substanz betrug in ihrer Verbindung mit Albumin 95 (58—155) mg. Von den untersuchten Harnen erwies sich nur einer bei der Anstellung der Heller'schen Probe als schwach eiweisshaltig und gerade dieser lieferte direkt nur 26 mg der Eiweissverbindung, enthielt aber auch am Wenigsten eiweissfällende Substanz.

Nur ausnahmsweise giebt nach Mörner ein Harn die C. 6. beschriebene Reaction mit Salpetersäure nicht. In vermehrter Menge fand sich dieses Eiweiss im Harn Neugeborener (Flensberg), bei Kindern und Erwachsenen häufig nach angestrengter Muskelthätigkeit, unter pathologischen Verhältnissen bei Blasenkatarrh, bei hochgradiger Leukämie (Fr. Müller, Obermayer), bei Nephritis, sowie bei den verschiedensten acuten Krankheiten (Reissner[2]) u. A.), nach Obermayer namentlich solchen, welche mit einer Schädigung der Niere einhergehen (Scharlach Diphtherie) oder dergleichen Giften (Pyrogallol, Theer, Naphtol, Sublimat, Arsen). Nach Fr. Müller kommt die mucinähnliche Substanz sehr regelmässig bei Abdominaltyphus vor, so lang hohes Fieber besteht, fehlt unter denselben Umständen bei croupöser Pneumonie fast nie und verschwindet hier wieder am 1. oder 2. Tage nach der Entfieberung. Enthält nach Reissner der Harn zugleich Eiweiss, so tritt es später auf und verliert sich ein paar Tage früher, als die mucinähnliche Substanz. Nach mechanischen Circulationsstörungen, wie sie durch Compression des Thorax (Schreiber, Pichler und Vogt[3]) und namentlich der Nierengefässe (Pichler und Vogt) hervorgebracht werden, findet sich reichlich mucinähnliche Substanz, oft von gewöhnlichem Eiweiss begleitet, im Harn. Die Chloroformnarkose hat nach Friedländer[4]) häufig das Auftreten beträchtlicher Mengen dieser Substanz im Gefolge. — Regelmässig tritt sie in grösserer Menge bei Icterus auf und verschwindet wieder mit diesem (Obermayer); hier besteht der durch Essigsäure hervorgerufene Niederschlag zweifellos zum Theil aus taurocholsaurem Eiweiss.

Im normalen Pferdeharn kommt eine der mucinähnlichen Substanz verwandte, von Eber[5]) untersuchte Verbindung vor.

B. *Eigenschaften.* Mörner[6]) hat zu seiner Untersuchung Präparate verwendet, welche aus Harn dargestellt worden waren, der die Heller-sche Eiweissprobe nicht in typischer Weise gab, die also in gewöhnlichem Sinne als eiweissfrei zu betrachten waren. Die Substanz war stets gefärbt, bisweilen ziemlich stark.

Die Eigenschaften des Nucleohiston sind unter B. 11 gesondert beschrieben.

---

[1]) Mörner, a. a. O. 418.

[2]) Mörner, a. a. O. 402. — Flensburg, Skandin. Archiv 4. 416. 1893. — Fr. Müller, Mittheilungen aus der med. Klinik zu Würzburg 1. 259. 1885. — F. Reissner, Virchow's Archiv 24. 191. 1862.

[3]) J. Schreiber, Archiv f. exper. Pathologie 19. 255. 1885; 20. 86. 1886. — K. Pichler u. V. Vogt, Centralbl. f. innere Med. 15. No. 17. 1894.

[4]) F. v. Friedländer, Vierteljahrschr. f. gerichtl. Med. [3] 8. Suppl. 94. 1895.

[5]) W. Eber, Centralbl. f. die med. Wissensch. 1886. 564.

[6]) Mörner, a. a. O. 402.

1. Nach den von Mörner angestellten Analysen erwiesen sich seine Präparate wesentlich als chondroitinschwefelsaures Albumin mit einer geringen Beimengung von Nucleoalbumin. Globulin war nach dem Schwefelgehalt in der Verbindung entweder gar nicht, oder nur in unwesentlicher Menge enthalten.

Es wurde gefunden 48,95, 50,94. und 51,62 % C, 13,30, 13,70 und 13,91 N, 2,43 Gesammtschwefel, 0,65 und 0,61 S in der Schwefelsäure und 0,08 und 0,1 % P. Die Zusammensetzung der aus Eiweissharn erhaltenen Präparate und die eines Serumalbuminniederschlags, mit welcher die der Niederschläge aus normalem Harn nahe übereinstimmt, ist bei der Chondroitinschwefelsäure (§ 18. C. d. und B. 3. b. *α*. S. 216 und 211), die der von Mme. Eliacheff analysirten bei den Ptomainen (§ 42. S. 408) erwähnt.

In mucinähnlicher Substanz ist der Phosphor auch von Obermayer (in solcher aus icterischem Harn) und von Fr. Müller nachgewiesen worden. Salkowski[1]) hat in einem schleimigen, nach der Reinigung so gut wie aschefreien Niederschlag, welcher sich von selbst aus einem Harn abgeschieden hatte, den Phosphorgehalt zu 1,79 % bestimmt, was sehr gut für Nucleoalbumin stimmt.

2. Die von Mörner dargestellten Substanzen geben in feuchtem Zustand mit Wasser in Gegenwart von etwas fixem Alkali oder Ammoniak schon bei neutraler Reaction leicht eine klare, gewöhnlich ziemlich stark braune Lösung. War die Substanz auf dem Wasserbad mit etwas Essigsäure eingetrocknet oder in trocknem Zustand auf 110—115° erhitzt worden, so quoll sie in verdünntem Ammoniak (0,02 %) zwar auf, löste sich jedoch nicht immer vollständig; durch Erwärmen konnte sie aber in Lösung gebracht werden.

Die von Mme Eliacheff gewonnene Substanz war sehr hygroskopisch und löste sich sehr leicht in Wasser, wenig in Alkohol und in Aether; sie besass saure Reaction.

Die Substanz lässt sich aus dem Harn auch durch Alkohol (2 Volumen, Hofmeister[2])) fällen; der Niederschlag ist grobflockig gallertig, unter dem Mikroskop höchst feinkörnig, fast homogen und löst sich in Wasser wieder mehr oder minder vollständig (Reissner, Hofmeister, Müller), was davon abzuhängen scheint, wie lang der Niederschlag im Alkohol verweilt hat.

3. Die schwach ammoniakalische Lösung kann nach Mörner mit Essigsäure bis zu stark sauerer Reaction versetzt werden, ehe eine Opalescenz eintritt, bei weiterem Zusatz der Säure wird sie opalescent und schliesslich gefällt. Neutralsalz kann die Fällung beeinträchtigen. Der abgeschiedene Niederschlag löst sich in Essigsäure sehr schwer, wird aber sogleich Säure im Ueberschuss zugesetzt, so kann die Substanz zuweilen schon mit 1 % Essigsäure gelöst werden, ein anderes Mal waren 8 % Essigsäure erforderlich. Für diese Löslichkeit ist die Verdünnung der Lösung von grosser Bedeutung. — Durch einen Zusatz von mehreren

---

[1]) Fr. Müller, Briefliche Mittheilung vom 31. Januar 1895. — Salkowski, Virchow's Archiv **131**. 320. 1893.

[2]) Fr. Hofmeister, Ztschr. f. physiol. Ch. **4**. 261. 1880.

Vol. Eisessig wird die Lösung nicht gefällt. In einem Ueberschuss von Salzsäure ist die Substanz leicht löslich.

Mit diesen Thatsachen stimmen die älteren Erfahrungen überein. Nach Hofmeister giebt Essigsäure mit der wässrigen Lösung des Alkoholniederschlags einen Niederschlag; an mucinähnlicher Substanz reicher Harn verhält sich ebenso (Reissner). Der Niederschlag löst sich nach Fr. Müller nur wenig in verdünnter überschüssiger Essigsäure, nach Reissner sowie nach Posner dagegen gut in Eisessig und nach Posner auch in concentrirter Ameisensäure. Er löst sich gleichfalls leicht in Mineralsäuren (Reissner, Hofmeister, Müller) und deshalb geben diese nur dann einen Niederschlag, wenn sie in sehr geringer Menge angewandt werden. Kohlensäure giebt nach Müller nur eine sehr schwache Trübung und im Filtrat erzeugt Essigsäure noch einen Niederschlag. Neutralsalze beeinträchtigen die Fällung durch Essigsäure, der Niederschlag ist unvollständig.

Wie die Essigsäure giebt nach Reissner auch die Weinsäure mit Harnen, die reich an der Substanz sind, einen im Ueberschuss unlöslichen Niederschlag; Schwefelsäure, Salpetersäure (bei Abwesenheit von Eiweiss), Salzsäure, Phosphorsäure, Oxalsäure trüben solchen Harn nur, wenn sie sehr verdünnt oder in geringer Menge zugesetzt werden, ein Ueberschuss dieser Säuren bringt die Trübung sofort wieder zum Verschwinden. Citronensäure trübt und klärt den Harn gleichfalls wieder, doch darf sie zur Erzielung einer Trübung in etwas grösserer Menge zugesetzt werden, als die genannten Säuren. Auch die durch Essigsäure oder Weinsäure erzeugte Trübung löst sich bald nach ihrer Entstehung in den genannten Mineralsäuren und in Oxalsäure wieder auf. — Die schleimige Substanz des Pferdeharns verhält sich nach Eber auch im wässrigen Auszug des Alkoholniederschlags, gegen Säuren wie die mucinähnliche Substanz des Menschenharns; nur löst auch die Citronensäure hier im Ueberschuss den Niederschlag nicht wieder. — In Betreff der Mineralsäuren (Salpetersäure, Salzsäure, Phosphorsäure) gelangte Müller zu dem gleichen Resultate wie Reissner.

Nach Posner[1]) giebt der coagulirte Antheil des Alkoholniederschlags nach dem Lösen in Essigsäure die Heller'sche Eiweissprobe, viel von der Substanz enthaltender Harn giebt nach Reissner die Heller'sche Probe.

Neutralsalze (Kochsalz, Salmiak, Salpeter, schwefelsaures und essigsaures Natron) sowie einfach- und zweifachsaures Natronphosphat hindern nach Reissner schon bei geringer Menge die Ausfällung der Substanz durch die Säuren, Harnstoff dagegen selbst in sehr grosser Menge nicht. Essigsaures Natron bringt eine bereits vorhandene Trübung leicht und vollständig wieder zum Verschwinden, während die andren Neutralsalze den Niederschlag nicht ganz vollständig wieder lösen. Auch den Schleimstoff des Pferdeharns löst das Natriumacetat nach Eber leicht, während ihn Magnesiumsulphat und Natriumsulphat unverändert lassen.

Wegen der lösenden Wirkung der Salze, namentlich des Acetats, ist die durch Essigsäure bewirkte Trübung nach Reissner in nativem Harn nicht so stark, als in stark verdünntem; fügt man einem Harn, der sich mit Essigsäure trübt, anderen, der es nicht thut, hinzu, so kann in der Mischung die Trübung durch Essigsäure ausbleiben. Auch setzt sich der Niederschlag aus nativem Harn meist nicht in filtrirbarem Zustand ab, wohl aber aus verdünntem.

Der mit Essigsäure aus Harn gefällte Körper löst sich in Kalilauge und wird aus dieser Lösung durch Essigsäure wieder gefällt (Schreiber).

4. Die neutrale oder mit Essigsäure schwach angesäuerte Lösung bleibt nach Mörner beim Kochen gewöhnlich entweder unverändert oder wird nur schwach getrübt. Ebenso verhält sich eine mit etwa

[1]) C. Posner, Virchow's Archiv **104**. 502. 1886.

dem gleichen Volumen gesättigter Kochsalzlösung versetzte Lösung. Selbst nach dem Zusatz von Essigsäure bis zur schwachen Opalescenz wird die Lösung nur getrübt. Auch die Coagulation von zugesetztem Blutserum wird erschwert. Zuweilen tritt aber beim Aufkochen der schwach angesäuerten Lösung ein flockiger Niederschlag ein. Diese Verschiedenheit im Verhalten beim Kochen der Lösung ist ausser durch verschiedene Concentration derselben bedingt durch eine Verschiedenheit im Verhältniss zwischen der eiweissfällenden Substanz und dem Eiweiss in der Verbindung. Bei unreiner direkt aus Harn erhaltener Substanz kann sich an der Coagulation auch beigemengtes Eiweiss betheiligen.

Nach Hofmeister giebt eine wässerige Lösung des Alkoholniederschlags beim Kochen eine starke Trübung, welche auf Essigsäurezusatz flockig wird. Die Trübung tritt bei 74—76° ein und wird in der Siedehitze (ohne Essigsäure) nicht stärker (Müller).

Nach Müller wird die Substanz beim Kochen auf Essigsäurezusatz sofort gefällt. Der Niederschlag löst sich nicht in Wasser, auch nicht in Essigsäure, wenn sie nicht in sehr grossem Ueberschuss angewandt wird, dagegen leicht in kohlensauren und kaustischen Alkalien. Diese Lösung giebt beim Neutralisiren mit Essigsäure einen Niederschlag, der, wie Protein, vom geringsten Ueberschuss an Essigsäure wieder gelöst wird. Kocht man eine Lösung der Substanz für sich, so giebt das Filtrat nach Müller mit Essigsäure noch einen beträchtlichen Niederschlag. — Die durch Essigsäure aus heissem Harn gefällten Flocken lösen sich nach Reissner leicht in Salzsäure.

Kochen verändert an mucinähnlicher Substanz reichen Harn nach Reissner nicht, fügt man aber dem noch heissen Harn Essigsäure hinzu, so bilden sich nach wenig Augenblicken Flocken. Der in der Kälte durch Essigsäure getrübte Harn bleibt dagegen beim Kochen unverändert. Setzt man einem gekochten Harn nach dem Erkalten Essigsäure zu, so trübt er sich blos. Enthält der Harn zugleich Eiweiss und filtrirt man den beim Kochen entstandenen Niederschlag ab, so erhält man im Filtrat mit Essigsäure manchmal eine Trübung, welche noch ebenso stark sein kann, wie im ungekochten Harn (Müller), oft eine viel geringere und manchmal selbst gar keine (Reissner).

5. Sämmtliche Harne, welche durch Essigsäure gefällt werden konnten, gaben nach Müller, wenn sie bei 30° mit Magnesiumsulphat gesättigt wurden, auch nach dem „Neutralisiren“ mit einfach saurem Phosphat, flockige Niederschläge. Dieselben lösten sich nach dem Waschen mit concentrirter Magnesiumsulphatlösung leicht und fast vollständig in Wasser, die gelbliche Lösung gab mit Essigsäure einen flockigen Niederschlag, der in Essigsäure kaum, dagegen in kohlensaurem Natron leicht löslich war, und trübte sich beim Kochen. Wiederholtes Fällen des Körpers mit Magnesiumsulphat ändert seine Eigenschaften nicht. Bei der Dialyse löst sich der Bittersalzniederschlag zuerst, dann tritt Trübung ein und im Filtrat giebt Essigsäure kaum noch eine weitere Trübung, so dass es scheint, als ob die Substanz durch Entziehung des lösenden Neutralsalzes ausgefallen sei.

Nach dem Sättigen der Harne mit Magnesiumsulphat erhielt Müller im Filtrat durch Essigsäure keine Trübung mehr, dagegen erzeugte Sättigen der mit Essigsäure ausgefällten Lösung der Substanz mit Bittersalz noch reichliche Trübung. Sättigen mit Kochsalz fällt die Substanz unvollständig, im Filtrat bewirkt Essigsäure noch einen Niederschlag. — v. Noorden[1]) sah in gekochtem Harn durch Essigsäure noch Trübung auftreten, während Sättigen mit Magnesiumsulphat keine hervorrief.

---

[1]) v. Noorden, Berliner klin. Wochenschr. 15. 1886. 238.

6. Bei Anstellung der Heller'schen Eiweissprobe mit einer 0,05 proc. Lösung entsteht nach Mörner sogleich ein scharf begrenzter Ring dicht bei der Salpetersäure, etwa 1 cm darüber tritt ein anderer weniger scharf begrenzter Ring auf. In einer mit Essigsäure versetzten Lösung erscheint nur der untere Ring.

7. Die mucinähnliche Substanz giebt die sog. Alkaloidreactionen der Eiweisskörper. Eine Lösung der reinen Substanz wird nach Mörner gefällt durch Metaphosphorsäure, Sulfosalicylsäure, Trichloressigsäure, Esbach's Reagens. Tannin giebt für sich oder in Gegenwart von Kochsalz einen reichlichen Niederschlag. Die mit einem Ueberschuss von Essigsäure versetzte Lösung wird, ausser durch diese Säuren, niedergeschlagen durch Pikrinsäure, Jodjodkalium, Jodquecksilberkalium, geringe Mengen Ferrocyankalium und durch Chondroitinschwefelsäure. Eine Lösung in einem geringen Ueberschuss von Salzsäure giebt mit wenig Ferrocyankalium sowie mit Jodquecksilberkalium einen reichlichen Niederschlag, mit Sublimat und Kochsalz eine Trübung oder einen Niederschlag.

Hiermit stimmt das Verhalten der rohen aus Harn erhaltenen Substanz überein. Ferrocyankalium fällt nach Reissner die essigsaure, nach Müller die salzsaure Lösung der Substanz, nach Posner auch die essigsaure Lösung des unter Alkohol unlöslich gewordenen Antheils. Auch der beim Fällen einer Lösung der Substanz mit Essigsäure in Lösung bleibende Rest wird durch Ferrocyankalium niedergeschlagen (Müller). Der Körper wird nach Hofmeister, Müller u. A. ferner gefällt durch Tannin, durch Phosphorwolframsäure, der unter Alkohol unlöslich gewordene Antheil in essigsaurer Lösung nach Posner auch fast constant durch Metaphosphorsäure, manchmal durch Pikrinsäure, häufig durch Jodquecksilberkalium, stets durch Quecksilberchlorid. — Im Harn giebt Ferrocyankalium nach Zusatz von Essigsäure oder Salzsäure keinen Niederschlag (Reissner). Nach Stewart geben normale Harne häufig mit Pikrinsäure, Trichloressigsäure, dem Sebelien'schen, Tanret'schen und Millard'schen Reagens (Schichtprobe) Niederschläge. Nach Martin[1]) wird Nucleoalbumin durch Trichloressigsäure gefällt wie ächte Eiweisskörper. — Die von Mme Eliacheff dargestellte Substanz wird durch Tannin flockig gefällt.

8. Die reine Substanz giebt die Farbenreactionen des Eiweisses, nach Mörner die Probe von Millon, von Adamkiewicz und die Biuretprobe, die Biuretprobe aber wegen der Eigenfärbung der Lösung oft undeutlich.

Mit der rohen Substanz wurden beobachtet die Biuretreaction (Hofmeister, Müller, Eber, Posner), die Xanthoproteinreaction (Eber), die Millon'sche Reaction (Eber), die Proben von Adamkiewicz (Posner), Liebermann (Reissner, Posner[2]), Axenfeld (Posner). Müller erhielt mit dem mucinähnlichen Körper „alle Eiweissreactionen mit Einschluss der Biuretreaction".

9. Von Fällungen durch Metallsalze ist ausser den den Alkaloidreactionen angehörigen nur die durch Bleizucker bekannt (Hofmeister, Müller).

---

[1]) D. D. Stewart, Med. News 1894. 29; Jahresb. f. Thierch. 1894. 306. — C. J. Martin, Journ. of Physiol. **15**. 377.

[2]) Posner, Centralbl. f. d. med. Wiss. 1887. 420.

10. Bei längerem Erwärmen mit (ungefähr 5 $^0/_0$) Salzsäure im Wasserbad, aber keineswegs schon beim Aufkochen, spaltet sich von der reinen Substanz nach Mörner Schwefelsäure ab und entsteht zu gleicher Zeit eine Kupferoxyd in alkalischer Lösung reducirende Substanz.

Die Bildung des reducirenden Körpers beim Kochen der rohen Verbindung mit verdünnter Mineralsäure (2 proc. Schwefelsäure) ist von Müller und Schreiber nicht wahrgenommen worden. Wenn diese Reaction bei genügend langem Erhitzen ausgeblieben wäre, so könnte der negative Befund darin seinen Grund haben, dass die verwendete Substanz keine Verbindung der Chondroitinschwefelsäure gewesen wäre. Das von Salkowski untersuchte Nucleoalbumin aus Harn gab die reducirende Substanz bestimmt nicht. — Die von Mme Eliacheff untersuchte Substanz reducirte Goldchlorid, Platinchlorid, Sublimat, sowie Silbernitrat in der Kälte, aber nicht Eisenchlorid; die mit Eisenchlorid versetzte Lösung gab mit Ferricyankalium keinen blauen Niederschlag.

11. a. Das Nucleohiston (Leuconuclein), ein Bestandtheil der Leucocytenkerne, mit 48,46 $^0/_0$ C, 7,00 H, 16,86 N, 3,03 P, 0,70 S, ist nach Lilienfeld[1]) unlöslich in Aethyl- und Methylalkohol, in Aether, Chloroform, Benzol, verdünnter Essigsäure. Es löst sich (in säurefreiem Zustand) in Wasser, frisch gefällt in Kochsalz- und Magnesiumsulphatlösung, besonders in Gegenwart von etwas Essigsäure, ferner in Natronlauge, Ammoniak, Schwefelammon, Natriumcarbonat, einfach saurem Natriumphosphat, in Eisessig und in concentrirter Salz- und Salpetersäure. Beim Behandeln mit Alkohol büsst es seine Löslichkeit in Neutralsalzen, Natriumcarbonat und Säuren ein.

b. Aus seiner (neutralen) Lösung wird es gefällt durch Kohlensäure, Essigsäure, Mineralsäuren (im Ueberschuss dieser löslich), Alkohol, Platinchlorid, Silbernitrat, Quecksilberchlorid. Durch Sättigen seiner Lösung mit Magnesiumsulphat oder Chlornatrium wird es nicht niedergeschlagen. Alkohol giebt in der mit Natronlauge bereiteten Lösung einen in Wasser leicht löslichen Niederschlag der Natriumverbindung; mit der Lösung giebt Chlorbaryum einen Niederschlag. In einer mit Natronlauge alkalisch gemachten Neutralsalzlösung quillt das Nucleohiston nicht.

c. Es coagulirt in neutraler oder schwach alkalischer Lösung beim Kochen.

d. Es giebt die Millon'sche und die Xanthoproteinreaction, nach längerem Stehen auch eine schwache Biuretreaction.

e. In frischem Zustand zerlegt es Wasserstoffsuperoxyd, nach dem Behandeln mit Alkohol und Aether aber nicht mehr.

---

1) L. Lilienfeld, Du Bois' Archiv 1892. 168, 551 und 554; Ztschr. f. physiol. Ch. 18. 478; 20. 103.

f. Lässt man das Nucleohiston einige Stunden mit verdünnter Salzsäure (Verdauungssalzsäure) in Berührung, so geht Histon in Lösung und zurück bleibt ein in überschüssiger Säure lösliches Nuclein (mit 4,7 % P).

Die Pepsinverdauung liefert in der Verdauungssäure unlösliches Nuclein (mit 4,99 % P). Beim Kochen des Nucleohistons mit Wasser entsteht ein Nuclein, welches sich in Wasser, in schwachem Alkohol und in verdünnten Mineralsäuren löst. Die aus dem Nucleohiston durch Einwirkung von Lauge dargestellte Nucleinsäure giebt mit Eiweiss einen in überschüssiger Säure löslichen Niederschlag.

g. Kalkwasser fällt aus Nucleohiston Histon, Barytwasser Nuclein.

C. *Nachweis.* 1. Trübt sich ein Harn auf Zusatz überschüssiger Essigsäure, namentlich nach dem Verdünnen, so darf die mucinähnliche Substanz als gegenwärtig angenommen werden.

Die Verdünnung des Harns vor dem Zusatz der Essigsäure verhütet nicht nur eine Verwechslung mit einem Uratniederschlag, sondern beschränkt auch die lösende Wirkung der Harnsalze auf den Eiweisskörper.

2. Schüttelt man (normalen) mit Essigsäure stark angesäuerten Harn mit Aether oder Chloroform oder Aethylalkohol, so bildet sich nach Plósz[1]) an der Grenzschicht beider Flüssigkeiten ein Häutchen oder ein sulziger Niederschlag von der mucinähnlichen Substanz.

3. Die Heller'sche Eiweissprobe zeigt die mucinähnliche Substanz gleichfalls an. Entsteht nach dem Schichten von Harn auf concentrirte Salpetersäure an der Berührungsstelle ein weisser Saum, so nimmt man die Gegenwart von gewöhnlichem Eiweiss an. Die mucinähnliche Substanz wird dagegen nach Mörner[2]) angezeigt durch eine schwache ringförmige oder diffuse Trübung, welche 0,5—1 cm oberhalb der Salpetersäure liegt; sie kann sich auch gegen die Salpetersäure herab erstrecken. Eine ähnliche Trübung kann in harnsäurereichen Harnen durch Ausscheidung dieser Säure entstehen; die Harnsäureausscheidung bleibt aber nach dem Verdünnen des Harns mit 2—3 Vol. Wasser aus, während die Trübung, welche von der mucinähnlichen Substanz herrührt, im verdünnten Harn bisweilen deutlicher ist als im unverdünnten. Die Trübung tritt auch in eiweisshaltigem Harn (neben dem Eiweissring) auf.

Es kann aber auch, wie Mörner[3]) beobachtet hat, in einem Harn, der arm an mucinähnlicher Substanz ist und eiweissfällende Substanz im Ueberschuss enthält, eine typische Heller'sche Reaction eintreten, wenn auch nur schwach. Nicht selten kann man nach Mörner oberhalb der Salpetersäure eine schwache diffuse Trübung und in dieser bisweilen eine Ausscheidung von Harnsäure wahrnehmen. — Statt der Salpetersäure kann man sich für diese Reaction ebenso gut jeder anderen Säure bedienen, es handelt sich dabei um eine Neutralisationsreaction.

---

1) P. Plósz, Orvosi hetilap 1890. 504; Jahrb. f. Thierch. 1890. 215.
2) Mörner, a. a. O. 402.
3) Mörner, a. a. O. 418.

4. Lecorché und Talamon[1]) schichten den Harn auf eine syrupdicke Lösung von Citronensäure; eine Trübung an der Grenzschicht zeigt die mucinähnliche Substanz an.

5. Ott[2]) versetzt eiweissfreien Harn zum Nachweis der mucinähnlichen Substanz mit dem gleichen Volumen gesättigter Kochsalzlösung und darauf mit Almen'scher (essigsäurehaltiger) Tanninlösung.

6. Für eine nähere Untersuchung der Substanz ist eine Abscheidung derselben nothwendig; man befolgt dabei die für die Darstellung des Chondroalbumins (§ 8. C. S. 214) gegebene Vorschrift. Ueber die Art, wie die einzelnen eiweissfällenden Säuren in den Niederschlägen aufzusuchen sind, ist bei der Chondroitinschwefelsäure (S. 215), der Gallensäure (S. 236) und der Nucleinsäure (S. 376) berichtet.

7. Das Nucleohiston ist dadurch charakterisirt, dass es beim Sättigen seiner Lösung mit Magnesiumsulphat nicht, aber, wie andere mucinähnliche Substanz, durch Essigsäure gefällt wird. Es giebt die Biuretreaction nicht oder nur schwach. Bei der Behandlung derselben mit verdünnter Salzsäure (C. 11. f.) geht Histon in Lösung; dieses giebt eine deutliche Biuretreaction, liefert mit Ammoniak einen im Ueberschuss des Reagens unlöslichen Niederschlag und wird aus concentrirter Lösung durch Aetheralkohol gefällt. Auch ist das Histon (aus den Leucocyten) in der Wärme coagulirbar. (Dieser § VII. 2). Eine Phosphorbestimmung im Nucleohiston würde den Befund stützen.

Jolles nahm 600 cc Harn in Arbeit. Der Harn wurde nach mässigem Zusatz von Essigsäure, um die Abscheidung des Niederschlags zu befördern, mit Kieselguhr geschüttelt, der Niederschlag abfiltrirt, in schwacher Natronlauge gelöst und das Filtrat mit Essigsäure gefällt. Dieses Verfahren wurde noch einmal wiederholt. Zusatz des gleichen Gewichts absoluten Alkohols zu dem angesäuerten Filtrat beschleunigte die Fällung und machte sie vollständiger.

V. Oxyproteinsäure.



$C_{43}H_{82}N_{14}O_{31}S$.

Die Säure ist von Bondzyński und Gottlieb[3]) im Harn aufgefunden und von ihnen allein untersucht worden.

A. *Vorkommen.* Ist im Harn des Menschen und des Hundes nachgewiesen worden.

Im Menschenharn macht bei gemischter Kost der in der Form der Oxyproteinsäure ausgeschiedene Stickstoff 2—3 % des Gesammtstickstoffs aus und in der Tagesmenge Harn sind auf das Barytsalz berechnet, etwa 3—4 gr enthalten.

---

1) E. Lecorché u. Ch. Talamon, Traité de l'albuminurie. Paris 1888. 82.

2) A. Ott, Prager Zeitschr. f. Heilk. **16**. 177. 1895.

3) St. Bondzyński u. R. Gottlieb, Centralbl. f. d. medic. Wissensch. 1897. 577.

Im Hundeharn sind bei reichlicher Fleischfütterung 2,5% des Gesammtstickstoffs in der Oxyproteinsäure enthalten und im Liter 10 gr Säure, auf das Barytsalz berechnet. Nach der Vergiftung mit Phosphor tritt sie im Hundeharn in erheblich grösserer Menge auf.

Eigenschaften. 1. Die Oxyproteinsäure ist in manchen Stücken der Fleischsäure Siegfried's (§ 30. V. S. 284), sowie der Peroxyprotsäure von Maly[1]) ähnlich. Die freie Säure hat noch nicht in reinem Zustand dargestellt werden können. Die oben angegebene, aus der Zusammensetzung des Barytsalzes abgeleitete Formel ist nicht ganz sicher festgestellt.

2. Von den Salzen ist nur das Barytsalz $C_{43}H_{74}N_{14}O_{31}SBa_4$ gut bekannt. Aus seiner wässrigen Lösung fällt es durch Alkohol in Flocken, welche bei längerem Verweilen unter Alkohol in harte, sandige Knollen und Kugeln ohne krystallinische Structur übergehen. Sehr hygroskopisch, in Wasser ungemein leicht löslich, in absolutem Alkohol unlöslich. Durch Sublimat wird die freie Säure nicht gefällt, wohl aber durch salpetersaures oder schwefelsaures Quecksilberoxyd. Das Mercurisalz ist amorph und unlöslich.

Die Alkalisalze konnten in fester Form und die leicht löslichen Salze der schweren Metalle in analysenreinem Zustand nicht erhalten werden.

3. Phosphorwolframsäure schlägt die Oxyproteinsäure nicht nieder.

4. Die Säure giebt wie die Peroxyprotsäure die Xanthoproteinprobe nicht, bildet beim Erwärmen mit bleihaltiger Lauge kein Schwefelblei und färbt sich mit Millon'schem Reagens nur ganz schwach chamois. Die Biuretprobe giebt sie, im Gegensatz zur Peroxyprotsäure, nicht.

5. Bei der Zersetzung mit Schwefelsäure liefert sie, wie die Peroxyprotsäure, kein Tyrosin.

C. *Darstellung.* Aus dem mit Baryt ausgefällten Harn wird sie mit anderen Substanzen durch Alhohol als Barytsalz niedergeschlagen. Zur Darstellung der Säuren bedienten sich Bondzyński und Gottlieb des folgenden Verfahrens.

Der Harn wurde bis fast zum Syrup eingedampft und der Rückstand mit Schwefelsäure (auf 1 Liter Harn 10 cc 20 proc.) und dem 5 fachen Volumen Alkohol vermischt, das Filtrat mit viel Wasser verdünnt mit Barythydrat im Ueberschuss versetzt, der überschüssige Baryt mit Kohlensäure entfernt, der Alkohol vertrieben und das Filtrat auf ein kleines Volumen eingeengt. Auf Zusatz von 4 bis 6 Volumen Alkohol fallen reichlich Flocken, die nach einiger Zeit schmierig werden; nach dem Lösen in wenig Wasser und Fällen mit absolutem Alkohol bleibt aber der Niederschlag flockig und lässt sich gut absaugen. Nach dem Trocknen im Exsiccator bildet er ein gelbliches Pulver. Aus der wässrigen Lösung desselben wurde der Baryt mit Schwefelsäure entfernt, das Filtrat mit Mercurinitrat gefällt,

---

[1]) Maly, Monatshefte f. Ch. 6. 154. 1885.

mit Barytwasser neutralisirt, der Niederschlag mit Schwefelwasserstoff zerlegt, der Schwefelwasserstoff verjagt und die Salpetersäure durch Digestion der Flüssigkeit mit Bleihydrat entfernt. Das in Lösung gegangene Blei wurde mit Schwefelsäure, der Ueberschuss der Schwefelsäure durch Baryt beseitigt, die Flüssigkeit mit Kohlensäure behandelt, eingedampft und die concentrirte Lösung mit Alkohol versetzt, wobei das Barytsalz der Oxyproteinsäure in weissen Flocken ausfällt. — Bei genauer Neutralisation der mit Mercurisulphat versetzten Lösung des rohen Salzes blieben nur Spuren Stickstoff in Lösung.

VI. Harnmucoid.

Die Mucinsubstanz des Harns ist von K. A. H. Mörner[1]) untersucht worden.

A. *Vorkommen.* Das Mucoid bildet fast den einzigen eiweissartigen Bestandtheil der Nubecula des Harns; aus der Nubecula von 260 Liter Harn gewann Mörner ungefähr 4,5 gr. Auch in gelöster Form kommt etwas Mucoid, aber keineswegs eine erhebliche Menge, im Harn vor und scheint dahin aus (den Zellen) der Nubecula gelangt zu sein. Es stammt aus der Schleimhaut der Harnwege.

B. *Eigenschaften.*

Der Entdecker des Harnmucoids unterscheidet ein typisches, ohne Anwendung von Wärme dargestelltes Mucoid von dem durch Wärme etwas verändertem „in Wasser löslichen" Mucoid. Die nachstehende Beschreibung bezieht sich auf das typische.

Das Harnmucoid besitzt eine grosse Aehnlichkeit mit dem von C. Th. Mörner[2]) aus dem Eiereiweiss dargestellten Ovomucoid, ist aber mit ihm doch nicht identisch.

1. Das Harnmucoid bildet nach dem Trocknen über Schwefelsäure ein weisses oder ganz schwach gelbliches Pulver. Es enthält im Mittel 49,40 % C, 12,74 % N und 2,30 % S, aber keinen Phosphor. Sein grosser Gehalt an Schwefel nähert es der Hornsubstanz und es kann daher, wie das Ovomucoid, als Keratomucoid bezeichnet werden.

Die Analyse wurde nach dem Verfahren von Frankland-Klingemann ausgeführt und deshalb der Wasserstoff nicht bestimmt.

2. Bisweilen löst es sich mit schwach saurer Reaction in Wasser, bisweilen nicht; es quillt dann bei kurzem Erwärmen in Wasser auf, kann aber durch eine Spur Ammoniak oder Lauge, gleichfalls mit saurer Reaction, in Lösung gebracht werden. Auch schwache Natriumacetatlösung nimmt es leicht auf. Ob die in dem Präparat in geringer Menge enthaltenen Salze von Bedeutung für die Löslichkeit sind, ist nicht entschieden; aber beim Aufbewahren büsst es an Löslichkeit ein (B. 12. a.). Die Lösung ist klar, gewöhnlich schwach gelb, leicht filtrirbar, nicht dickflüssig, noch weniger schleimig oder fadenziehend, aber ziemlich stark lichtbrechend.

---

1) K. A. H. Mörner, Skandin. Archiv **6**. 338. 1895.
2) C. Th. Mörner, Ztschr. f. physiol. Ch. **18**. 525. 1893.

3. Die specifische Drehung wurde bei einem in Wasser löslichen Präparat zu $[\alpha]_D = -62^0$ bestimmt.

Ein in Wasser nicht lösliches, in etwas Kalilauge gelöstes Präparat ergab $[\alpha]_D = -63{,}7^0$ und ein ebensolches in Ammoniak gelöstes $[\alpha]_D = -67{,}1^0$.

4. Beim Kochen trübt sich die von Haus aus schwach saure wässrige Lösung nicht, auch nicht bei Gegenwart von wenig oder viel Kochsalz.

5. Essigsäure erzeugt in der wässrigen oder mit Hilfe von wenig Ammoniak oder Lauge hergestellten Lösung einen Niederschlag, der durch einen Ueberschuss von Essigsäure (2,5—5,5 $^0/_0$) wieder in Lösung geht. Das Harnmucoid löst sich also in Essigsäure viel leichter als andere Mucine. Neutralsalze (Kochsalz, Chlorammon) erschweren die Fällung durch Essigsäure; bei Gegenwart mässiger Mengen Salz bleibt die Lösung klar, wird aber etwas dickflüssig, beim Schütteln mit Chloroform scheiden sich dann nur etwas klebrige Flocken ab. Grössere Mengen Salz können diese Fällung ganz verhindern und sie tritt dann erst auf Zusatz von mehr Essigsäure ein.

6. Auch Mineralsäuren fällen das Mucoid, lösen es aber leichter als Essigsäure. Ein weiterer Ueberschuss an Mineralsäure ruft nicht, wie bei den ächten Eiweisskörpern, wieder einen Niederschlag hervor.

Schichtet man die Mucoidlösung auf concentrirte Salpetersäure (Heller'sche Eiweissprobe), so bildet sich der weisse Ring nicht an der Berührungsstelle beider Flüssigkeiten, sondern einige Millimeter weiter oben, und dieser Niederschlag verschwindet, wenn die Salpetersäure dahin diffundirt. Eine essigsaure Lösung des Mucoids giebt diese Probe gleich gar nicht.

Ebenso verhalten sich die eiweissfällenden Säuren: Metaphosphorsäure, Trichloressigsäure, Sulfosalicylsäure, Pikrinsäure, Pikrinsäure mit Citronensäure (Esbach's Reagens), eine geringe Menge erzeugt einen Niederschlag, der sich in einem Ueberschuss löst; noch grössere Mengen bewirken keine Fällung und eine mit Essigsäure versetzte Lösung giebt mit diesen Säuren schon anfangs keinen Niederschlag.

Die (eiweissfällende) Chondroitinschwefelsäure kann die Fällung des Mucoid durch Essigsäure, sowie die Abscheidung des Mucoids durch Chloroform verhindern.

Wird eine neutrale, mit etwas Ammoniak bereitete Mucoidlösung normalem sauren Harn zugesetzt, so entsteht bei keinem Mischungsverhältniss eine Trübung. Ebenso negativ fiel der Versuch aus auf Zusatz von Mucoidlösung zu Harn, der durch Dialyse vom grössten Theil der Chloride, von einem geringeren der Phosphate befreit und mit Chloroform geschüttelt war; aber nach dem Zusatz des Mucoids fiel beim Schütteln mit Chloroform ein geringer Theil des Mucoids aus.

7. Sättigen mit Kochsalz fällt das Mucoid nicht, auch nicht in der Wärme; durch Eintragen von Magnesiumsulphat, sowie auf Zusatz mehrerer Volumen von neutralem gesättigten Ammonsulphat entstehen reichliche Niederschläge.

8. Von den Metallsalzen fällen Kupfersulphat, Silbernitrat, Bleizucker, Sublimat, Eisenchlorid, Alaun das Mucoid nicht; auch in

der salzsäurehaltigen Lösung giebt Sublimat, selbst in Gegenwart von etwas Kochsalz keinen Niederschlag zum Unterschied von ächtem Eiweiss. Nur Bleiessig erzeugt einen im Ueberschuss schwer löslichen Niederschlag.

9. Das Mucoid fällt in geringem Grade Eiweisslösung.

Beim Ueberschichten einer essigsauren Mucoidlösung mit einer Lösung von verdünntem Blutserum in Essigsäure (0,2 $^0/_0$) kann eine Trübung entstehen.

10. Alkaloidreactionen. Das Mucoid wird reichlich gefällt nur durch Jodjodkalium und Salzsäure, Phosphorwolframsäure und Salzsäure, Tannin mit Essigsäure und Kochsalz.

Dagegen giebt das Mucoid keinen Niederschlag mit Jodjodkalium sowie mit Kaliumquecksilberjodid und Essigsäure unter Bedingungen, unter denen Eiweiss niedergeschlagen wird. Kaliumquecksilberjodid und Salzsäure fällt die Lösung des Mucoids nur dann, wenn es bereits (durch Einwirkung von Wärme) verändert ist. Auch die eiweissfällenden Säuren (B. 6.) und Sublimat (B. 8.) schlagen das typische Mucoid nicht nieder, wohl aber einige von ihnen das veränderte.

Ferrocyankalium mit Essigsäure oder mit ein wenig Salzsäure giebt gleichfalls keinen Niederschlag, ebensowenig Chondroitinschwefelsäure und wenig Essigsäure in einem Verhältniss, in welchem Eiweiss gefällt wird; bei Gegenwart von viel Essigsäure erzeugt aber Chondroitinschwefelsäure einen im Ueberschuss der Säure löslichen Niederschlag.

11. Farbenreactionen. Das Mucoid giebt die Farbenreactionen der Eiweisskörper.

Es treten ein die Biuretprobe und die Xanthoproteinprobe. Bei der Reaction von Adamkiewicz entsteht eine rosenrothe Färbung. Das Millon'sche Reagens giebt einen Niederschlag, der beim Kochen roth wird, während die Flüssigkeit ungefärbt bleibt.

Mit α-Naphtol und concentrirter Schwefelsäure wird eine vorübergehende Rothfärbung erhalten; eine violette Färbung wie beim Zucker kommt nicht zu Stande.

12. Zersetzungen. a. Das Mucoid verändert schon bei der Behandlung mit heissem Wasser seine Eigenschaften.

Das über Schwefelsäure getrocknete verändert sich beim Erhitzen auf 110^0, selbst 130^0 nicht wesentlich; auch das in Lösung auf 100^0 erhitzte, dann (mit Essigsäure und Chloroform) ausgefällte Mucoid ist nach dem Trocknen über Schwefelsäure noch in Wasser löslich, büsst aber die Löslichkeit in Wasser und in Natriumacetat durch Trocknen bei 110—115^0 fast ganz ein und das durch Eindampfen seiner wässrigen Lösung gewonnene Mucoid löst sich selbst in (schwachem) Ammoniak nicht oder nur sehr langsam; durch Erhitzen mit Wasser kann dieses aber zum Theil in Lösung gebracht werden.

Wird eine wässrige oder mit etwas Ammoniak oder Kalilauge hergestellte saure Mucoidlösung im zugeschmolzenen Rohr 4—5 Stunden im Wasserbad erhitzt, so sinkt seine specifische Drehung beträchtlich (bis auf — 53^0), ohne dass die Lösung ihre Reaction und Farbe verändert, noch ihre Durchsichtigkeit eingebüsst hat. Es wird dann auch nicht mehr durch Essigsäure gefällt, aber im Gegensatz zum typischen Mucoid, oft durch Jodquecksilberkalium niedergeschlagen und kann selbst mit Jodquecksilberkalium und Essigsäure, mit dem Esbach'schen Reagens und mit Trichloressigsäure Niederschläge geben. Die Veränderung in der Zusammensetzung ist unbedeutend; es kann der Stickstoffgehalt des Produkts

etwas höher sein als der des typischen Mucoids (13,12 % gegen 12,78). Neben diesem durch Alkohol fällbaren Produkt entsteht ein durch Alkohol nicht fällbares, welches die Millon'sche Reaction nicht giebt und schon für sich alkalische Kupferoxydlösung ziemlich schnell und stark reducirt.

b. Wird eine Mucoidlösung mit alkalischer Kupferoxydlösung im Wasserbad erwärmt, so beginnt sie nach etwa 5 Minuten einen geringen Niederschlag von Kupferoxydul (und Schwefelkupfer) abzuscheiden. Diese Reduction scheint um so leichter einzutreten, je stärker alkalisch die Kupferlösung ist.

c. Erwärmt man eine Mucoidlösung mit einigen Procent Salzsäure auf dem Wasserbade, so färbt sie sich allmählich braunviolett und scheidet dann mit alkalischer Kupferoxydlösung viel reichlicher Kupferoxydul ab als ohne vorgängige Behandlung mit Salzsäure. Die Reduction tritt jedoch lange nicht so schnell auf, wie mit einer Traubenzuckerlösung.

Die Chondroitinschwefelsäure und ihre Eiweissverbindungen verhalten sich ebenso, bei der Zersetzung dieser tritt aber Schwefelsäure auf. Die Reduction tritt auch ein, wenn das Mucoid mit 0,1—0,15 proc. Salzsäure 1—2 Stunden in siedendem Wasser erhitzt worden ist. Darnach geben Jodquecksilberkalium, Esbach's Reagens, Metaphosphorsäure und Trichloressigsäure Niederschläge, nach längerem Erhitzen auch Ferrocyanwasserstoff und Sulfosalicylsäure. Beim Schichten der Lösung auf Salpetersäure tritt in der Grenzschicht kein Niederschlag, aber eine Gelbfärbung ein. Es entsteht also bei der Zerlegung neben dem reducirenden Körper eine Substanz, welche Eiweissreactionen giebt, wahrscheinlich eine Albumose. Bei unvollendeter Zersetzung wird durch Alkohol aus der Lösung eine Substanz gefällt, welche ein wenig mehr Kohlenstoff und Stickstoff enthält, als das ursprüngliche Mucoid.

d. Beim Erwärmen des Mucoids mit Salzsäure spaltet sich keine Schwefelsäure ab; es enthält also den Schwefel nicht in der Form einer gepaarten Schwefelsäure, wie die Chondroitinschwefelsäure.

e. Lässt man eine Lösung des Mucoids in 1 proc. Natronlauge in der Kälte stehen, so tritt gleichfalls eine Spaltung ein und aus der Lösung lässt sich als Kupferverbindung ein Körper abscheiden, der sich in warmem Wasser löst, stickstoffhaltig ist, aber die Millon'sche Eiweissreaction nicht giebt, und nach dem Erwärmen mit Salzsäure alkalische Kupferoxydlösung reducirt.

13. Die in Wasser lösliche Mucinsubstanz unterscheidet sich nur dadurch vom typischen Mucoid, dass sie durch Essigsäure nicht gefällt wird und eine etwas niedrigere spec. Drehung, $[\alpha]_D = -59,2^0$, besitzt.

C. *Darstellung.* Die Darstellung lohnt sich nur bei der Verwendung grosser Harnmengen; Mörner hat 25—260 Liter auf einmal in Arbeit genommen. Der Harn soll eiweissfrei sein.

Man lässt den mit Chloroform sterilisirten Harn stehen, bis sich die Nubecula abgesetzt hat, hebert den klaren Harn ab und bringt das Sediment auf ein Filter. Bis zur gemeinsamen Verarbeitung grösserer Mengen wird der schleimige

Belag des Filters in Chloroformwasser, oder besser in Weingeist aufbewahrt. Man bringt ihn dann in der Weise zur Lösung, dass man ihn in Wasser vertheilt, die Flüssigkeit mit Ammoniak schwach alkalisch macht und während der Zeit, welche die Lösung beansprucht, alkalisch hält. In die Flüssigkeit leitet man dann, ohne vorher zu filtriren, Kohlensäure bis zu schwach saurer Reaction, wobei der grösste Theil der in Lösung gegangenen Harnsäure gefällt wird und auch etwa vorhandenes Eiweiss ungelöst bleiben kann. Nach 1—2 tägigem Stehen in der Kälte wird filtrirt und die Flüssigkeit bis zu etwa 0,4% mit Essigsäure versetzt; sie wird dabei dickflüssig, eine Abscheidung der Substanz aber durch die gegenwärtigen Salze verhindert. Schüttelt man darauf kräftig mit reichlichen Mengen Chloroform, so entsteht ein flockiger etwas klebriger Niederschlag, den man am Besten mittelst der Centrifuge sammelt und in der Centrifuge mit 0,2—0,4 proc., mit Chloroform gesättigter Essigsäure wäscht. Der Niederschlag wird in reinem Wasser unter Zusatz von ganz wenig Ammoniak gelöst, wieder mit Essigsäure gefällt und dieses Verfahren wiederholt, wenn sich aus einer mit Salzsäure versetzten, in der Kälte aufbewahrten Probe binnen einigen Tagen Harnsäure absetzt. Zuletzt wird die Substanz mit Weingeist und darauf mit Aether zerrieben und gewaschen, und über Schwefelsäure getrocknet. Das so erhaltene Präparat ist das typische Mucoid.

Die Mutterlauge enthält die lösliche Mucinsubstanz, deren Menge bisweilen bedeutend, selbst grösser als die des typischen Mucoids sein kann. Um diese zu gewinnen, werden die bei der Fällung mit Essigsäure und Chloroform (oder Essigsäure allein) erhaltenen Filtrate bei neutraler Reaction im Wasserbade eingeengt, schwach angesäuert und mit Alkohol gefällt. Die wässrige Lösung des Niederschlags wird durch Dialyse bei schwach saurer Reaction von der Hauptmasse der Salze befreit und wieder mit Alkohol gefällt. Entsteht dabei nur eine Trübung, so fehlt es an Salz und man fügt deshalb etwas Kochsalz zu. Der flockige Niederschlag wird in Wasser gelöst, durch Alkohol gefällt, mit Aether gewaschen und über Schwefelsäure getrocknet.

Auch aus Harn, der durch Dialyse vom grösseren Theil der Chloride befreit worden ist, kann Mucoid direkt durch Zusatz von Essigsäure (0,15%) und Schütteln mit Chloroform abgeschieden werden (K. A. H. Mörner[1]).

D. *Nachweis.* Der Nachweis fällt zum Theil mit der Darstellung zusammen. Charakteristisch für das Mucoid ist vor Allem die Bildung einer Kupferoxyd in alkalischer Lösung reducirenden Substanz beim Erwärmen mit verdünnter Salzsäure (B. 12. c.); vor Anstellung der Reaction hat man dafür zu sorgen, dass etwa vorhandener Zucker durch Waschen der Substanz mit Alkohol entfernt wird. Verwechselt kann das Mucoid in dieser und anderer Hinsicht werden mit Chondroproteïd (§. 18, S. 211); allein dieses liefert bei der Zersetzung mit Salzsäure ausser der reducirenden Substanz auch Schwefelsäure. Vom Chondroproteïd unterscheidet sich das Mucoid noch dadurch, dass das Chondroproteïd in schwach essigsaurer Lösung beim Kochen mit dem gleichen Volumen gesättigter Kochsalzlösung einen Niederschlag liefert, dass es ferner mit eiweissfällenden Säuren (Metaphosphorsäure, Trichloressigsäure, Sulfosalicylsäure, Esbach's Reagens) im Ueberschuss der Säuren unlösliche Eiweissniederschläge giebt, und auch durch Ferrocyanwasserstoff gefällt wird.

---

1) K. A. H. Mörner, a. a. O. 360.

Mit dem positiven Ausfall der Reductionsprobe ist nur die Gegenwart eines Mucins erwiesen; der Mangel einer schleimigen Beschaffenheit der mit Essigsäure gefällten Substanz kennzeichnet sie als Mucoid.

VII. Die Albumosen und das Pepton.

Als Zerfallsprodukte des Gewebseiweisses treten im Harn, aber nur pathologischer Weise, Eiweisssubstanzen auf, welche die allgemeinen Eigenschaften der Albumosen besitzen, und die man deshalb bisher auch als identisch mit diesen Verdauungsprodukten angesehen hat. Sehr selten ist eine der Heteroalbumose ähnliche Substanz aufgefunden worden, häufiger aber ein Eiweisskörper, welcher, wenn man ihn mit den Verdauungsalbumosen vergleicht, nach Neumeister, nach Hofmeister, sowie nach Krehl und Matthes[1]) grösstentheils aus Deuteroalbumose zu bestehen scheint, das Pepton im Sinne Brücke's, das Harnpepton. Gelegentlich hat man auch andere, den secundären Albumosen anscheinend angehörige Eiweisskörper mit etwas anderen Eigenschaften als die des Harnpeptons angetroffen. In neueren Untersuchungen ist auch ein anderer albumoseartiger Körper, das Histon, im Harn nachgewiesen worden; es ist daher nicht unwahrscheinlich, dass auch in anderen Fällen, wenn nicht in allen, das Harnpepton aus Histon besteht.

Um die Vergleichung der im Harn auftretenden albumoseartigen Substanzen mit den Verdauungsalbumosen und dem Histon zu erleichtern, gebe ich die Beschreibung dieser.

Die Albumosen sind auch Propepton (Schmidt-Mülheim) oder Proteosen (Halliburton) genannt worden. Mit Pepton bezeichnet man zwei verschiedene Verdauungsprodukte: Brücke nannte so ein von ihm definirtes Verdauungsprodukt, Kühne wandte aber denselben Namen auf einen anderen als Endprodukt der Verdauung erkannten Eiweissabkömmling an. Diese gleichartige Benennung verschiedener Substanzen kann zu Verwechslungen führen und hat zu blossem Wortstreit Anlass gegeben. Um solchen Unzukömmlichkeiten vorzubeugen, gebrauche ich hier für den von Brücke als Pepton bezeichneten Eiweisskörper den Namen Harnpepton. Das Pepton im Sinne Kühne's kommt nach Untersuchungen, welche Devoto, sowie E. Schütz in meinem Laboratorium ausgeführ thaben, ferner nach Schutter, nach Senz, Hirschfeldt, Jankowski, Stadelmann nicht im Harn Kranker vor, nach Thomson auch nicht im Harn Schwangerer und nach Sior[2]) nicht im Harn gesunder und kranker Kinder.

---

[1]) R. Neumeister, Ztschr. f. Biol. **26**. 339. — F. Hofmeister, Ztschr. f. analyt. Ch. **30**. 110. — L. Krehl und M. Matthes, Arch. f. klin. Med. **54**. 505. 1895.

[2]) L. Devoto, Ztschr. f. physiol. Ch. **15**. 471. 1891. — J. A. Schutter, Jahresber. f. Thierch. 1886. 228; 1888. 117. — K. Senz, Ueber Albumosurie und Peptonurie. Diss. Berlin 1891; Centralbl. f. d. med. Wiss. 1892. 825. — H. Hirschfeldt, Diss. Dorpat 1892. — P. Jankowski, Diss. Dorpat 1893. — E. Stadelmann, Untersuchungen über die Peptonurie. Wiesbaden, 1894. — H. Thomson, Deutsche med. Wochenschr. 44. 1889. — L. Sior, Jahresb. f. Kinderheilk. **37**. 352.

1. Die Verdauungsalbumosen.

Unsere jetzigen Kenntnisse von der Beschaffenheit der Albumosen rühren von Kühne[1]) und seinen Schülern her; bei einer näheren Charakterisirung der Harnalbumosen hat man auf die Eigenschaften der Verdauungsalbumosen Bezug zu nehmen. Man unterscheidet deren drei: die Hetero-, die Proto- und die Deuteroalbumose; wegen ihrer Bildung aus einander nennt man die ersten zwei primäre, die letzten zwei secundäre Albumosen. Eine vierte Albumose, Dysalbumose, ist coagulirte Heteroalbumose.

Das a- und b-Pepton Meissner's, sowie sein Metapepton sind Albumosen. Das Pepton siccum von Witte (in Rostock), sowie andere käufliche Peptone bestehen wesentlich aus Albumosen.

Die unten angeführten Eigenschaften sind hauptsächlich die der durch Pepsinverdauung gewonnenen Fibrinalbumosen. Albumosen anderer Darstellungsweisen oder aus anderen Eiweisskörpern bieten in einzelnen Punkten unwesentliche Abweichungen dar.

Eigenschaften. 1. Nach den Löslichkeitsverhältnissen gehört die Heteroalbumose in die Gruppe der Globuline, die Proto- und die Deuteroalbumose in die Gruppe der Albumine. Die secundären Albumosen lösen sich leicht in Wasser, die Heteroalbumose dagegen nur sehr wenig, bei 40° besser als in der Kälte (Neumeister[2]). Alle Albumosen lösen sich in mässig concentrirten Neutralsalzlösungen, in verdünnten Säuren, in Alkalihydraten und in Alkalicarbonaten.

Aus der Lösung in Säuren oder in Alkalien wird die Heteroalbumose durch Neutralisiren wegen der lösenden Wirkung des beim Neutralisiren gebildeten Salzes nicht vollständig gefällt. Durch Kohlensäure wird eine alkalische Albumoselösung nach Adamkiewicz nur getrübt, nicht gefällt. Der durch Verdünnung einer Heteroalbumoselösung in Salzwasser auftretende Niederschlag löst sich nicht blos in Neutralsalz, sondern auch in den genannten Reagentien.

Unter Alkohol, beim Aufbewahren in trocknem Zustande, bei der Fällung durch Sättigen mit Salz, beim Kochen verliert die Heteroalbumose theilweise oder ganz die Fähigkeit, sich in Kochsalz zu lösen. Die coagulirte Albumose (Dysalbumose) löst sich langsam, aber vollständig in Salzsäure von 0,1—0,2 % und giebt beim Neutralisiren Heteroalbumose und Dysalbumose. Sie löst sich in der Wärme in Sodalösung von 1 % und wird dabei wieder in Heteroalbumose übergeführt (in Salzwasser löslich, durch Dialyse abscheidbar). In selbst salzfreier Deuteroalbumoselösung löst sich nach Neumeister[3]) Dysalbumose und wird aus dieser Lösung bei Abwesenheit von Protalbumose durch Steinsalz nicht gefällt; Salpetersäure erzeugt in einer solchen Lösung keinen Niederschlag, wohl aber Kupfersulphat einen im Ueberschuss unlöslichen.

---

1) Kühne u. Chittenden, Ztschr. f. Biol. **20**. 11; **22**. 409; **25**. 358. — Chittenden, Studies from the laborat. of physiol. chem. Sheffield scient. school of Yale University **2**. 126. u. 156. 1887. — Kühne, Ztschr. f. Biol. **29**. 1. 308; **30**. 221. — R. Neumeister, daselbst **23**. 381. 402; **24**. 267; **26**. 57. 324; Lehrbuch der physiol. Ch. **1**. 184. 1893. — Eine selbstständige Untersuchung der Albumose von Herth, Monatshefte f. Chemie **5**. 266.

2) Neumeister, Ztschr. f. Biol. **24**. 269.

3) Neumeister, Ztschr. f. Biol. **23**. 393.

2. a. Alle Albumosen werden aus schwach alkalischer, neutraler oder schwach saurer Lösung durch Sättigen derselben mit Ammonsulphat gefällt (Wenz[1]), die aus Protalbumose hervorgegangene Deuteroalbumose jedoch unvollständig (Neumeister).

Nach Kühne[2]) lassen sich die schwer fällbaren Antheile der Albumose nur in der Weise vollständig abscheiden, dass man die Lösung nach einander bei alkalischer und bei saurer Reaction mit Ammonsulphat sättigt.

b. Durch Sättigen ihrer Lösungen mit Kochsalz wird die Heteroalbumose fast vollständig, die Protalbumose nur theilweise (etwa zur Hälfte) niedergeschlagen, die Deuteroalbumose dagegen gar nicht. Der in Lösung bleibende Rest der Heteroalbumose kann durch Dialyse, der Rest der Protalbumose sowie ein Theil der Deuteroalbumose aus der mit Salz gesättigten Lösung durch Essigsäure abgeschieden werden. Die Dysalbumose ist in Salzwasser unlöslich.

Eine Heteroalbumoselösung in Salzwasser trübt sich beim Verdünnen mit Wasser, eine gesättigte sogleich, eine nicht gesättigte erst nach stärkerem Verdünnen.

Die darin bestehende Gleichheit der Proto- und der Deuteroalbumose, dass beide durch Salz und Säure gefällt werden, ist nur eine scheinbare; der durch Salz und Säure fällbare Antheil der Protalbumose ist nach dem Entfernen der Säure gleichfalls durch Salz allein fällbar, aber wieder nur theilweise, und der durch Salz allein fällbare Antheil wird bei einer neuerlichen Fällung seiner Lösung durch Salz allein wieder nur theilweise niedergeschlagen. Die Deuteroalbumose dagegen wird nur durch die gleichzeitige Anwendung beider Fällungsmittel abgeschieden.

3. Alkohol fällt alle Albumosen vollständig aus ihren neutralen Lösungen, wobei nur die Heteroalbumose theilweise coagulirt (in Dysalbumose übergeführt) wird. Die beiden anderen Albumosen lösen sich nach dem Fällen wieder leicht und vollständig in Wasser. Aus saurer oder alkalischer Lösung fällt Alkohol die Albumosen nicht; aus einer Lösung in 60proc. Alkohol wird die Albumose nach Hofmeister beim Neutralisiren nahezu vollständig in Flocken abgeschieden.

4. Die Lösungen drehen die Ebene des polarisirten Lichtes nach links.

Nach Salkowski beträgt $[\alpha]_D = -78$ bis -80^0. Kühne und Chittenden[3]) bestimmten die specifische Drehung der Heteroalbumose zu $-60{,}7$ bis $-68{,}7^0$, die der anderen Albumosen zu $-70{,}5$ bis $-81{,}2^0$ mit ebenso grossen Schwankungen für ein und dieselbe Albumose.

5. Die Heteroalbumose dialysirt nach Kühne[4]) in neutraler oder schwach saurer Lösung nur ganz unwesentlich, in alkalischer Lösung merklich, aber auch nur langsam. Die Protalbumose und die Deu-

1) J. Wenz, Ztschr. f. Biol. 22. 10.
2) Kühne, Ztschr. f. Biol. 29. 1.
3) Salkowski, Virchow's Archiv 81. 560. — Kühne und Chittenden, a. a. O. 20. 51.
4) Kühne, Ztschr. f. Biol. 29. 20.

teroalbumose dialysiren in schwach saurer Lösung besser als in alkalischer; von beiden dialysirt aber die Protalbumose schneller als die Deuteroalbumose.

6. a. Eine mit Heteroalbumose gesättigte neutrale Lösung in schwacher (1 proc.) Kochsalzlösung giebt beim Erwärmen eine starke Trübung, welche ihr Maximum bei ungefähr 60° erreicht; Säure und Salz scheinen den Coagulationspunkt herabzusetzen. Die Trübung verschwindet in viel Essigsäure vollkommen, löst sich aber nicht wieder in der Wärme und nicht in Kochsalz. Versetzt man dieselbe Lösung vor dem Kochen mit Kochsalzlösung gleicher oder stärkerer Concentration, so ist die beim Erhitzen auftretende Trübung um so geringer, je mehr Salz zugesetzt wurde, und bleibt endlich ganz aus. Solche Lösungen mit überschüssigem Salz, welche beim Kochen noch trüb werden, trüben sich beim Erkalten unter Abscheidung eines undeutlich flockigen Niederschlags stärker als vorher, ohne dass jedoch die Albumose vollständig ausfällt. Durch einen passenden Salzzusatz lassen sich nach Kühne und Chittenden ungesättigte Albumoselösungen herstellen, die beim Erwärmen milchig, dann beim Kochen klar werden und beim Erkalten Flocken absetzen.

Es kommt dabei aber nicht allein auf das Verhältniss der Menge der Albumose zur Menge der Salzlösung, sondern auch auf die Concentration der Salzlösung an; so kann eine Albumoselösung in 3 proc. Kochsalzlösung, welche sich beim Erhitzen nur wenig und beim Erkalten nicht viel stärker trübt, nach dem Verdünnen mit 1 proc. Salzlösung beim Erhitzen und Erkalten einen bedeutenden Niederschlag geben.

b. Die mit Kochsalz gesättigten Lösungen der secundären Albumosen trüben sich bei der ihnen eigenthümlichen schwach alkalischen Reaction beim Kochen entweder gar nicht, wie die Deuteroalbumose, oder nur wenig (Protalbumose).

c. Versetzt man die Lösung einer Albumose mit dem gleichen Volumen gesättigter Steinsalzlösung und darauf mit Essigsäure, so entsteht ein Niederschlag, der sich beim Erwärmen löst und beim Erkalten wieder auftritt. Die primären Albumosen geben dabei noch bei einer Verdünnung von 1 : 1000 eine deutliche Trübung, die Deuteroalbumose blos bei 1 : 100 (Neumeister[1]).

Setzt man zu wenig Essigsäure zu, so löst sich der Niederschlag in der Wärme nicht vollständig; verwendet man zu viel Essigsäure, so kann sich der Niederschlag schon in der Kälte lösen oder er tritt gar nicht erst auf. — Nur die Albumosen des Fibrins geben diese Reaction, die Deuteroalbumose aus Myosin, Vitellin, Eiereiweiss giebt sie dagegen nicht.

Eine in der Wärme klar bleibende Lösung von Heteroalbumose in Salzwasser trübt sich nach Kühne und Chittenden auf Zusatz von Essigsäure, Salpeter-

---

1) Neumeister, Ztschr. f. Biol. 26. 334.

säure oder Salzsäure und klärt sich durch mehr Säure wieder. Salpetersäure färbt die Lösung, schon in der Kälte, zugleich gelb. Die wieder klar gewordenen Lösungen bleiben auch beim Kochen und Wiedererkalten klar; fügt man mehr Kochsalz hinzu, so entsteht aufs neue ein Niederschlag; das Auftreten des Niederschlags ist also von dem Verhältniss zwischen Salz und Säure abhängig. Erhitzt man eine derartige trübe Lösung oder eine solche, die von vornherein nur mit so viel Säure versetzt worden war, dass eine eben merkliche Trübung entstand, so nimmt die Trübung in der Wärme zu, verschwindet beim Kochen und kehrt in der Kälte wieder. Der Niederschlag ist auch hier kein vollständiger, es bleibt immer noch Albumose in Lösung.

Eine alkalische Heteroalbumoselösung kann beim Kochen völlig klar bleiben.

d. Wird eine mit Heteroalbumose nahezu gesättigte Lösung in Kochsalz von 3—4% tropfenweise mit concentrirter Salzsäure versetzt, bis sich der anfangs entstehende Niederschlag beim Umschütteln wieder löst, so wird beim Neutralisiren ein Theil der Albumose gefällt. Ebenso giebt eine mit concentrirter Natronlauge versetzte nahezu gesättigte Heteroalbumoselösung beim Neutralisiren einen Niederschlag. Kühne und Chittenden nehmen an, dass dabei ein dem Protein (Albuminat) vergleichbarer Körper, Albumosat, entsteht. Kochen der Albumose mit verdünnter Soda oder Salzsäure von 0,2% ändert ihre Eigenschaften dagegen nicht.

7. Salpetersäure giebt mit einer wässrigen Deuteroalbumoselösung keinen Niederschlag, er tritt erst auf Zusatz von Kochsalz auf und bei den meisten Deuteroalbumosen (aus Fleisch, Eiereiweiss etc.) erst in salzgesättigter Lösung. Die Flüssigkeit färbt sich aber schon in der Kälte gelb. Die primären Albumosen geben dagegen auch ohne Salzzusatz Fällung bei einer Verdünnung von 3 : 100.

Bei Zusatz von wenig Säure verschwindet der Niederschlag beim Umschütteln wieder, durch mehr Säure wird er dauernd und ein weiterer Zusatz von Säure löst den Niederschlag wieder. Ein mässiger Niederschlag verschwindet beim Erwärmen und tritt beim Erkalten wieder auf; die Lösung wird dabei nicht gelb, sondern röthlich.

8. Durch Essigsäure und Ferrocyankalium werden die primären Albumosen gefällt, die Deuteroalbumose (nach Kutscher[1]) in reinem Zustand wahrscheinlich gar nicht. Die Niederschläge lösen sich (der aus Heteroalbumose bei Gegenwart einer genügenden, einige Procent betragenden Menge Salz) in überschüssiger Essigsäure, mässige Niederschläge lösen sich auch beim Erwärmen und treten beim Erkalten wieder auf. Die Niederschläge unterscheiden sich aber darin, dass sich die der secundären Albumosen in Kochsalz lösen, der der Heteroalbumose dagegen nicht.

Bei Zusatz von zu viel Essigsäure kann der Ferrocyankaliumniederschlag ganz ausbleiben und auf Zusatz von zu viel Ferrocyankalium brauchen die secundären Albumosen gar nicht auszufallen.

9. Trichloressigsäure giebt nach Obermayer mit Albumose einen in der Wärme löslichen Niederschlag. Nach Martin[2]) wird

1) F. Kutscher, Ztschr. f. physiol. Ch. 23. 116. 1897.

2) Fr. Obermayer, Wiener med. Jahrb. 1888. 375; Jahresb. f. Thierch. 1889. 7. — C. J. Martin, Journ. of Physiol. 15. 377.

Heteroalbumose am Leichtesten gefällt, Deuteroalbumose am Schwersten; verdünnte Deuteroalbumoselösung giebt mit Trichloressigsäure keinen Niederschlag. Die Niederschläge lösen sich in Lauge.

10. Von Metallsalzen fällen schwefelsaures Kupfer sowie beide Bleiacetate in Kochsalz gelöste Heteroalbumose stark, die Niederschläge sind im Ueberschuss der Reagentien unlöslich. Quecksilberchlorid fällt nur die mit Essigsäure versetzte Lösung, der Niederschlag löst sich erst in einem sehr grossen Ueberschuss von Eisessig.

Mit der wässrigen Lösung der Protalbumose geben Kupfersulphat und Bleiessig im Ueberschuss lösliche, in der Wärme unlösliche Niederschläge, Quecksilberchlorid einen im Ueberschuss unlöslichen Niederschlag. Durch Kupfersulphat sind nach Neumeister[1]) noch Spuren der Protalbumose (1 : 10000) nachweisbar. Bleizucker fällt nur die genuin alkalische, nicht die angesäuerte Lösung, der Niederschlag ist im Ueberschuss des Reagens löslich.

Die Deuteroalbumose giebt mit den Metallsalzen dieselben Reactionen wie die Protalbumose, nur wird sie nach Neumeister selbst in concentrirter Lösung durch Kupfervitriol nicht gefällt.

Kupferoxydul (Kupfervitriol in Gegenwart von Bisulphit) fällt die (secundären) Albumosen quantitativ (Huppert[2]).

11. Bei dem Hofmeister'schen Verfahren zur Entfernung des Eiweisses beim Nachweis des Harnpeptons (Fällen durch Eisenchlorid bei neutraler Reaction, S. 442) werden nach Neumeister sowie nach Matthes[3]) die Albumosen, im Besonderen die Deuteroalbumose, nur höchst unvollständig niedergeschlagen.

12. Chondroitinsäure giebt nach Mörner mit Albumosen in Gegenwart von 0,2 % Salzsäure oder Essigsäure eine in Chlornatrium leicht lösliche milchige Trübung und durch Nucleinsäure werden Albumosen entschieden weniger leicht gefällt als Eiweiss, doch giebt eine neutrale Nucleinsäurelösung nach Kutscher mit Albumose einen Niederschlag von Nuclein. — Taurocholsäure fällt nach Maly und Emich Albumose nicht; der sich bildende Niederschlag besteht aus Taurocholsäure. — Ein sehr empfindliches Fällungmittel ist nach Kossel sowie nach Kutscher das Protamin, aber nur für die Protalbumose, nicht für die Deuteroalbumose; der Niederschlag tritt noch ein bei einer Verdünnung von mehr als 1 : 10000. — Nach Loew[4]) wird Albumose (Witte'sches Pepton) im Gegensatz zu Eiereiweiss und Kühne'schem Pepton durch Formaldehyd sofort gefällt. — Mit einer Lösung von Globulin oder Syntonin in der gerade genügenden Menge Natriumcarbonat, aber nicht mit Serum- oder Eieralbumin geben nach Kutscher Proto- und Deuteroalbumose Niederschläge, welche sich in überschüssigem Alkali und in Säure lösen.

13. Alkaloidreactionen. Von Phosphorwolframsäure und Phosphormolybdänsäure werden nach Neumeister nur die primären Albumosen vollständig niedergeschlagen, von der Deuteroalbumose entgehen geringe Mengen der Fällung. Almén'sche Tanninlösung fällt die Albumosen (noch bei 1 : 100000) die Deuteroalbumose löst sich aber in salzfreier Flüssigkeit nach Kutscher, wie das Kühne'sche Pepton, im Ueberschuss des Reagens. — Jodquecksilberkalium (in schwach salzsaurer Lösung), sowie überschüssige Pikrinsäure geben nach Neumeister selbst mit sehr verdünnten Albumoselösungen voluminöse

---

1) Neumeister, Ztschr. f. Biol. **23**. 383.

2) Huppert, Ztschr. f. physiol. Ch. **22**. 559.

3) Neumeister, Ztschr. f. Biol. **26**. 339. — M. Matthes, Berliner klin. Wochenschr. **31**. 531. 1894.

4) K. A. H. Mörner, Skandin. Archiv **6**. 379 u. 374. 1895. — Kutscher, a. a. O. — Maly u. Emich, Monatsh. f. Ch. **4**. 96. — Kossel, Deutsche med. Wochenschr. 1894. 147. — Loew, Jahresb. f. Thierch. 1888. 273.

Niederschläge; der mit dem Quecksilbersalz erzeugte Niederschlag löst sich beim Sieden in der sauren Flüssigkeit. Auch die Niederschläge, welche Metaphosphorsäure und Pikrinsäure mit den Albumosen geben, lösen sich in der Wärme wieder auf. Die Metaphosphorsäure fällt nach Kühne und Chittenden die Albumosen nicht vollständig, es bleibt ein durch Sättigen der Lösung mit Ammonsulphat noch fällbarer Antheil derselben in Lösung. Die Pyrogallussäure ist entgegen der Angabe von Axenfeld[1]) kein specifisches Fällungsmittel der Albumosen. Ueber andere Alkaloidreactionen der Albumosen S. 420.

14. Von den Farbenreactionen sind mit Erfolg die Xanthoproteinreaction, die Millon'sche und die Biuretreaction angestellt worden; in reinen Albumoselösungen tritt die Biuretreaction nach Neumeister noch ein bei einer Verdünnung von 1:10000. Alle Albumosen liefern nach Kühne und Chittenden beim Kochen mit alkalischer Bleilösung Schwefelblei.

15. Eigenschaften des Peptons nach Brücke (Harnpepton) dieser § VII. 3. B.

2. Das Histon.

Das Histon ist zuerst von Kossel aus den Kernen der Gänseblutkörperchen dargestellt und von ihm hauptsächlich untersucht worden. Es ist ein Zersetzungsprodukt des Nucleohistons, eines in den Zellkernen vorkommenden Nucleoalbumins (Lilienfeld); die Histone selbst betrachtet Kossel[2]) als Verbindungen der Protamine mit Eiweisskörpern. (Vergl. diesen § IV. B. 11).

A. *Eigenschaften.* 1. In Wasser löslich, wird aus der concentrirten Lösung durch Alkohol gefällt, der Niederschlag löst sich wieder in Wasser. Wird bei der Dialyse zurückgehalten. Die wässrige Lösung des Histons aus den Gänseblutkörperchen coagulirt nicht beim Kochen (Kossel), das Histon aus den Leucocyten giebt dabei aber einen Niederschlag, welcher in Mineralsäure sehr leicht löslich ist (Lilienfeld).

Das mit Alkohol und Aether gefällte Histon gab bei der Analyse 50,67 % C, 6,99 H, 17,93 N, 0,50 S.

2. Die neutrale Lösung wird mehr oder minder vollständig gefällt durch Lösen von Ammonsulphat, Magnesiumsulphat, Chlorammon, Chlornatrium, Natriumcarbonat in derselben; ferner durch Ammoniak, Kalkwasser und Natronlauge (im Ueberschuss löslich); nicht gefällt oder nur getrübt durch einfach saures Natriumphosphat, Chlorcalcium, die Bleiacetate, Quecksilberchlorid, Essigsäure, Schwefelsäure. Salpetersäure giebt einen Niederschlag, welcher beim Erwärmen verschwindet und beim Erkalten wieder auftritt.

3. Aus der salzsauren Lösung fällt auf Zusatz von Ammoniak ein (auch in überschüssigem Ammoniak) völlig unlöslicher Niederschlag (Kossel). Dieser Niederschlag löst sich

---

[1]) Neumeister, Ztschr. f. Biol. 26. 340. — Kutscher, a. a. O. — Kühne u. Chittenden, a. a. O. 22. 448. 1886. — Axenfeld, Ann. di chim. e di farm [4] 5. 193; Jahresber. f. Thierch. 1887. 5.

[2]) A. Kossel, Ztschr. f. physiol. Ch. 8. 511. 1884. — L. Lilienfeld, daselbst 18. 482. 1893; Du Bois Archiv 1892. 170 u. 551. — Kossel, Sitzungsber. der Gesellsch. zur Beförderung der gesammten Naturwissensch. zu Marburg 1897. 58.

in verdünnter Salzsäure, und auf Zusatz von Alkohol und Aether entsteht ein in Wasser löslicher Niederschlag von salzsaurem Histon (Lilienfeld).

Der Ammoniakniederschlag gab 52,31 % C, 7,09 H und 18,46 N.

4. Im Gegensatz zu den Eiweisskörpern wird das Histon (wie das Protamin) nach Mathews[1]) aus neutraler wässriger Lösung gefällt durch Ferrocyankalium, Kaliumdichromat und pikrinsaures Natrium, ferner durch alkalisches oder neutrales wolframsaures Natron und durch Jodjodkalium.

5. Histon giebt die Biuretreaction.

3. Das Harnpepton.

A. *Vorkommen.* Peptonurie, in dem S. 466 bezeichneten Sinne, kommt zu Stande durch Zerfall organisirten Gewebes, wobei es gleichgiltig ist, ob das Gewebe ein physiologisches ist, wie die Leber oder der Uterus, oder ein pathologisches: eine Neubildung (Carcinom) oder ein zellenreiches Exsudat. Nicht in allen solchen Fällen erscheint Albumose im Harn, Bedingung für den Uebergang derselben in Harn ist die Anwesenheit einer grösseren Menge Albumose im Blute. Seltener rührt die Albumose her aus Secreten (Sperma) oder, wie es scheint, auch aus Nahrungsbestandtheilen (Milch bei Nephritis). Der in besonderer Weise isolirte Antheil der Albumosen (vorwiegend Deuteroalbumose) ist als Pepton, Harnpepton, bezeichnet worden. Diesen Albumosen gehört das Histon an.

Mittelst der gewöhnlichen Albumosereactionen fand v. Jaksch Albumose vorübergehend im Harn in einem Fall von Darmtuberkulose, Senator siebenmal bei verschiedenen Krankheitsprocessen, Löb häufig bei Masern (im Beginn der Defervescenz), Heller in 2 von 7 Scharlachfällen, Köttnitz in einem Fall von Gravidität mit todter Frucht, aber auch in 2 Fällen bei gesunden Schwangeren mit lebender Frucht; die Albumose soll hier aus dem Fruchtwasser stammen. Lassar sah Albumose vor dem Eintritt der eigentlichen Albuminurie im Harn von Kaninchen erscheinen, die mit Petroleum übergossen waren, Jitta[2]) im Harn von Kaninchen nach subcutaner Injection von Stoffen, welche die Blutkörperchen zerstören (Glycerin, Wasser, wässrige Hämoglobinlösung).

Nach v. Noorden sowie nach Posner lässt sich in spermahaltigem Harn Albumose nachweisen; sie ist nach Posner[3]) nicht in den Spermatozoen, sondern in der Samenflüssigkeit enthalten und stammt aus den accessorischen Drüsen. Georges sowie Hugounenq haben in je einem Falle von syphilitischer

---

1) A. Mathews, Ztschr. f. physiol. Ch. **23**. 402. 1897.

2) v. Jaksch, Ztschr. f. klin. Med. **8**. 216. 1884. — Senator, die Albuminurie im gesunden und kranken Zustande. Berlin 1882. 9. — M. Löb, Centralbl. f. klin. Med. 15. 1889; Centralbl. f. d. med. Wiss. 31. 1891. — J. Heller, Berliner klin. Wochenschr. 48 1889. — A. Köttnitz, Deutsche med. Wochenschr. 30. 1888. 613. 44—46. 1889. — Lassar, Virchow's Archiv **77**. 157. — N. M. J. Jitta, Jahresb. f. Thierch. 1885. 474.

3) C. v. Noorden, Arch. f. klin. Med. **38**. 237. 1885. — O. Posner, Berliner klin. Wochenschr. 21. 1888. 417; Centralbl. f. d. med. Wiss. 1890. 497; 1892. 225.

Nephritis bei Milchdiät Albumose im Harn aufgefunden und Hugounenq betrachtet diese Albumosurie als eine Theilerscheinung dieser Krankheit. Aber schon vorher hat Gérard[1]) bei Nephritikern in der ersten Zeit der Milchbehandlung neben Eiweiss auch Albumose im Harn nachgewiesen.

Bei der Peptonurie sind verschiedene Formen aufgestellt worden, die aber für das Wesen der Erscheinung bedeutungslos geworden sind.

Als grundlegend sind die Untersuchungen von F. Hofmeister und von Maixner zu betrachten. An dem weiteren Ausbau der Lehre haben sich wesentlich betheiligt v. Jaksch, Pacanowski, Fischel, Stadelmann, O. Brieger, W. Robitschek[2]) u. A.

Nach Fischel tritt bei der Rückbildung des puerperalen Uterus Pepton im Harn auf; die Peptonurie beginnt meist in der zweiten Hälfte des 1. Tages nach der Geburt, dauert ausnahmslos bis zum 4., sehr häufig noch bis zum 7. Tag und erlischt nach dem 12. Tag vollkommen (Puerperale Form). Fischel hat ferner gefunden, dass schon im Harn Schwangerer nicht gar selten Pepton meist in geringer Menge erscheint, selbst schon 8 Wochen vor der Geburt, eine Wahrnehmung, die noch keine Erklärung gefunden hat. Diese Befunde von Fischel sind im Wesentlichen bestätigt worden von Biagio, Köttnitz, Hirschfeldt, Jankowski, für den Abortus von Senz[3]).

Bei Unterbrechung der Ernährung physiologischer Gewebe kommt es zur Peptonurie; Pacanowski wies sie nach in je 2 Fällen von Embolie und von Gehirnapoplexie. Bei Compression des Rückenmarks in Folge von Wirbelcaries nahm sie wahr E. Robitschek[4]), bei Gangrän W. Robitschek, bei Ulcus cruris Hirschfeldt.

Peptonurie beobachteten Schultzen und Riess bei acuter Leberatrophie, Stadelmann bei interstitieller Hepatitis und bei Lebercarcinom, Pacanowski ferner manchmal bei Icterus catarrhalis, Bouchard in vielen Fällen von Leberschwellung bei fieberlosen Kranken. (Hepatogene Form). Zu derselben Form dürfte die Peptonurie zu rechnen sein, welche zuerst Schultzen und Riess, dann Maixner sowie v. Jaksch bei acuter Phosphorvergiftung wahrnahmen. Fischel hat sie durch Vergiftungsversuche an Hunden hervorgerufen. Nach einer Beobachtung von W. Robitschek[5]) tritt das Pepton bald nach der Vergiftung in grossen Mengen auf und nimmt im Verlauf der Krankheit immer mehr

---

[1]) Georges, Journ. de chimie et de pharm. [6] 5. 326; Chem. Centralbl. 1897. 1. 1064. — L. Hugounenq, Journ. de chimie et de ph. [6] 5. 427; Ch. Centralbl. 1897. 1. 1216. — E. Gérard, J. de ch. et de ph. [5], 26. 104; Ch. Centralbl. 1892. 2. 658.

[2]) F. Hofmeister, Ztschr. f. physiol. Ch. 4. 253; Prager med. Wochenschr. 33 u. 34. 1880. — Maixner, Prager Vierteljahrsschr. 143. 75. — v. Jaksch, Ztschr. f. klin. Med. 6. 413. 1882. — H. Pacanowski, das. 9. 429. 1885. — W. Fischel, Arch. f. Gynäkol. 24. 400. 1884; Centralbl. f. Gynäkol. 27. 1889. — E. Stadelmann, Archiv f. klin. Med. 33. 526. 1883. — O. Brieger, Ueber das Vorkommen von Pepton im Harn. Diss. Breslau 1888. — W. Robitschek, Ztschr. f. klin. Med. 24. 556.

[3]) Biagio, Centralbl. f. Gynäkol. 1887. 529. — A. Köttnitz, a. a. O. — H Hirschfeldt, Diss. Dorpat 1892. — P. Jankowski, Diss. Dorpat 1893 (Hirschfeldt u. Jankowski, auch bei Stadelmann, Untersuchungen über die Peptonurie, Wiesbaden 1894. 68). — K. Senz, Ueber Albumosurie und Peptonurie, Diss. Berlin 1891.

[4]) E. Robitschek, Prager. med. Wochenschr. 1896. 116.

[5]) Schultzen u. Riess, Charité-Ann. 15; Chem. Centralbl. 1869. 681. — Bouchard, L'Union méd. 136. 137. 1886; Virchow-Hirsch's Jahresber. 1886. 1. 249. — Fischel, Arch. f. Gynäk. 24. 420. — W. Robitschek, Deutsche med. Wochenschr. 24. 1893.

ab. Brieger vermisste das Pepton bei Lebercirrhose und in einem Fall von acuter Leberatrophie, Robitschek traf es bei Lebercirrhose nur einmal an (in einem mit Meningitis complicirten Fall).

Maixner[1]) wies zuerst Pepton im Harn bei Magenkrebs nach; er hielt die Peptonurie abhängig vom Sitz des Carcinoms. Pacanowski glaubt aber, dass sie dem Carcinom überhaupt eigenthümlich ist, er beobachtete sie auch bei Carcinom des Oesophagus, des Rectums, des Uterus, E. Robitschek bei Nierenkrebs, Brieger dagegen fand Pepton wieder nur bei Carcinom des Magens, des Oesophagus und des Duodenums, auch in einem Fall von Magengeschwür, dagegen nicht bei Carcinomen andrer Lokalisation (Uterus, Mamma, Peritonaeum, Gehirn, Leber etc.).

Ausserordentlich häufig ist Peptonurie bei der Resorption an farblosen Blutzellen reicher Exsudate beobachtet worden (pyogene Form), sie tritt auf nach Maixner bei croupöser Pneumonie zumeist im Lösungsstadium (und vorher, Brieger), bei eitriger Pleuritis, Bronchoblennorrhoe, Lungenerweiterung bei Phthisis, Meningitis cerebrospinalis epidemica, Abscessbildung u. s. w. v. Jaksch fügte diesen Krankheitsformen noch hinzu den acuten Gelenkrheumatismus und verschiedene Fälle von Sepsis mit Eiterherden, ferner einen Fall von einer geborstenen eitrigen Ovariencyste; einen ähnlichen Fall beobachtete Küster. v. Jaksch zeigte ferner, dass bei der tuberkulösen Meningitis das Pepton im Harn fehlt, wenn die Krankheit nicht mit Eiteransammlung (in der Lunge) complicirt ist. Wassermann beobachtete Peptonurie auch bei Knocheneiterung, Hirschfeldt sowie Schultess bei Osteomyelitis, Pacanowski ferner bei chronischer Pneumonie, Angina, Muskelrheumatismus, Parotitis etc., Brieger bei exsudativer Peritonitis, Schultess bei Parotitis epidemica, bei Angina und bei Diphtheritis, W. Robitschek in einem Fall von Morbus Basedowii mit Myxödem. Sehr bemerkenswerth ist der gleichfalls von Pacanowski geführte Nachweis, dass auch bei acuten Krankheiten Pepton im Harn auftritt, und zwar im Beginn der Defervescenz, wie Pacanowski besonders häufig bei Typhus abdominalis, aber auch bei Typh. exanthem., Pocken, Scharlach, Erysipelas, Intermittens beobachtete; Hirschfeldt und Jankowski bestätigen diese Angaben für Variola, Schultess für Scharlach; die einschlägigen Beobachtungen von Heller bei Scharlach und von Löb bei Masern sind oben erwähnt. Senz sah Pepton bei acutem Pemphigus auftreten. Grocco[2]) beobachtete Peptonurie bei Malaria zur Zeit der Anfälle und Robitschek bringt einen ebensolchen Fall bei. Durch Injection von Tuberkulin wird nach Kahler und nach Devoto Peptonurie hervorgerufen. Fieber an sich aber bewirkt nach Schultess keine Peptonurie.

Bei Leukämie fanden nur Köttnitz und E. Robitschek Pepton im Harn, dagegen Maixner, v. Jaksch[3]) nicht; in 2 Fällen, welche W. Robitschek untersuchte, war die Reaction schwach oder zweifelhaft.

Bei Blutergüssen unter die Haut ist wiederholt Peptonurie zur Beobachtung gekommen (hämatogene Form), so bei Skorbut (v. Jaksch), Purpura hämorrhagica (Grocco), traumatischer Ecchymose (Pacanowski); diese Wahrnehmungen sind mehrfach bestätigt worden. Es handelt sich hier entweder um Resorption des ergossenen Blutes oder wie bei der Embolie um Ernährungsstörungen, oder um Beides zugleich.

---

1) Maixner, Ztschr. f. klin. Med. 8. 234. 1884.

2) M. Wassermann, De la peptonurie etc. Thèse. Paris 1885. — E. Schultess, Arch. f. klin. Med. **58**. 325. 1897. — P. Grocco, Annali univ. di med., Agosto 1884; Virchow-Hirsch's Jahresber. 1884. **1**. 242.

3) Köttnitz, Berliner klin. Wochenschr. **33**. 1890. 794. — Maixner, Ztschr. f. klin. Med. 8. 247. — v. Jaksch, Ztschr. f. klin. Med. **6**. 423; Ztschr. f. physiol. Ch. **16**. 247.

Der oben angeführten Beobachtung von Jitta über die Bewirkung von Peptonurie durch Substanzen, welche Blutkörperchen zerstören und zweifellos auch andere Gewebe schädigen, schliessen sich an die von Schultess über Antipyrin, von Piccinini[1]) über Antifebrin und Guajacol (subcutan) und von W. Robitschek über Kohlenoxyd.

Häufig ist die Peptonurie nach Maccabruni, Morro, Köppen bei Geisteskranken, namentlich, nach Fronda sowie nach Meyer und Meine[2]) bei Paralytikern.

Bei reiner Nephritis fehlt das Pepton im Harn.

Histon trafen Krehl und Matthes an bei allgemeiner Peritonitis, bei Pneumonie in der zweiten Hälfte der Krankheit, bei Erysipel und bei Scharlach, dagegen nicht bei Tuberkulose. — Kolisch und Burian wiesen es nach in einem Fall von Lymphämie. Eine Verbindung desselben, das Nucleohiston, giebt Jolles[3]) an in einem Falle von Pseudoleukämie gefunden zu haben.

Ueber die Grösse der Peptonausscheidung hat Maixner[4]) nach der colorimetrischen Methode von Hofmeister einige Beobachtungen angestellt. Am meisten erscheint im Harn bei Empyem (0,66 % des Harns oder 4,96 g in der Tagesmenge) und bei der croupösen Pneumonie im Lösungsstadium (0,69 und 0,76 % oder über 4 g in der Tagesmenge). Andererseits können die Peptonmengen aber auch sehr gering sein (0,065 % in einem Fall von zellenarmem Empyem). Viel fand sich auch in einem Fall von Peritonitis suppurativa (0,33—0,74 %), wohl wegen der grossen Resorptionsfläche.

B. *Eigenschaften* (Ergänzung zu VII. 1).

1. Die Peptone (Brücke) sind in ihrer Zusammensetzung, aber, soweit bis jetzt bekannt, nicht in ihren chemischen Eigenschaften, nach dem Eiweisskörper, aus welchem sie entstanden sind, verschieden. Das Eiterpepton ist nach F. Hofmeister[5]) ein ächtes Eiweisspepton.

2. Das Pepton ist amorph. Es löst sich leicht in Wasser, schwer dagegen, wiewohl besser als Albumin, in Alkohol; Alkohol fällt aus neutraler Peptonlösung zusammenfliessende Flocken, die sich auch nach noch so langem Verweilen unter Alkohol wieder leicht in Wasser lösen. Seine wässrigen Lösungen diffundiren zwar nicht besonders leicht, aber doch leichter als die Lösungen des Albumins und des Globulins. Es lenkt die Ebene des polarisirten Lichts nach links ab. Durch mehrstündiges Erhitzen des trockenen Peptons auf 140° wird Eiweisspepton in eine Substanz verwandelt, welche die Reactionen der (primären) Albumosen giebt (Hofmeister, Henninger).

Die verschiedenen Peptone besitzen ein verschiedenes Drehungsvermögen; die spec. Drehung des Fibrinpeptons bestimmte F. Hofmeister[6]) zu $[\alpha]_D = -63{,}5^0$.

---

[1]) A. Piccinini, Ann. di chim. e di farm. **18**. 230. 1890; Jahresb. f. Thierch. 1893. 578.

[2]) Maccabruni, Morro, bei Fronda. — Köppen, Arch. f. Psychiatrie **20**. 1889. — R. Fronda, Jahresb. f. Thierch. 1894. 631. — H. Meyer u. H. Meine, Arch. f. Psychiatrie **27**.; Centralbl. f. d. med. Wiss. 1896. 320.

[3]) L. Krehl u. M. Matthes, Centralbl. f. innere Med. 1895. 387; Arch. f. klin. Med. **54**. 509. 1895. — R. Kolisch u. R. Burian, Ztschr. f. klin. Med. **29**. 374. 1896. — A. Jolles, Ber. d. chem. Gesellsch. **30**. 172. 1897.

[4]) Maixner, Ztschr. f. klin. Med. **11**. 342. 1886.

[5]) F. Hofmeister, Ztschr. f. physiol. Ch. **4**. 270.

[6]) F. Hofmeister, a. a. O. 272.

3. Die Peptone vereinigen sich, wie die anderen Eiweisskörper, mit Basen und mit Säuren, sowie mit Salzen.

Versetzt man eine Peptonlösung mit Kalk- oder Barytwasser, so fällt nach Henninger[1]) Kohlensäure nur einen Theil der Basis; Alkohol scheidet dann aus der Flüssigkeit Kalk- oder Barytpepton ab. — Die Verbindungen des Peptons mit Salzen (Chlorcalcium, Phosphaten u. s. w.) sind gleichfalls in Alkohol unlöslich.

4. In der Siedehitze giebt eine Peptonlösung bei keiner Reaction einen Niederschlag.

5. Von den Neutralsalzen giebt nur das Ammonsulphat, beim Sättigen der Lösung mit dem Salz, mit dem Pepton nach Brücke einen Niederschlag. Wie das Ammonsulphat verhält sich nach Bömer auch das Zinksulphat. Die mit Kochsalz gesättigte Lösung des Harnpeptons wird nach Krehl und Matthes[2]) durch Zusatz von salzgesättigter Essigsäure nicht vollständig gefällt.

6. Durch Salzsäure, Schwefelsäure, Salpetersäure, Essigsäure wird das Pepton weder in der Wärme noch in der Kälte gefällt; in einer mit Bittersalz gesättigten Peptonlösung entsteht aber auf Zusatz von Säure ein Niederschlag von Pepton (Hofmeister[3]).

7. Fast alle eiweissfällenden Reagentien (S. 420 u. 435) schlagen auch das Brücke'sche Pepton nieder. Vom Eiweiss unterscheidet es sich aber dadurch, dass es nach Brücke (in Gegenwart von Neutralsalz) durch Essigsäure und Ferrocyankalium nicht gefällt wird.

a. Die Phosphorwolframsäure fällt bei Gegenwart einer Mineralsäure Pepton. Die Fällung ist nach Hirschler vollständig; nach Schulze und Barbieri entsteht noch mit Peptonlösungen von 0,02% deutliche Trübung. Der Niederschlag löst sich in der Wärme. Von der Phosphorwolframsäure wird das Pepton auch bei Gegenwart von Essigsäure niedergeschlagen, während andere durch Phosphorwolframsäure fällbare Harnbestandtheile (Kreatinin u. s. w.) wohl bei Gegenwart einer Mineralsäure, aber nicht von Essigsäure mit Phosphorwolframsäure Niederschläge geben (F. Hofmeister). In Gegenwart von Essigsäure ist die Fällung jedoch unvollständig (Schulze und Barbieri) und braucht auch gar nicht einzutreten; Peptonlösungen mit nur wenig mehr als 0,01% werden durch Essigsäure und Phosphorwolframsäure erst in einigen Minuten milchig getrübt (Hofmeister). Ebenso ist nach Maixner[4]) in Gegenwart freier Phosphorsäure die Fällung nicht so vollständig als in Gegenwart von Salzsäure.

b. Tannin fällt das Pepton nur aus neutralen oder schwach sauren Lösungen; in Essigsäure oder Salzsäure ist der Niederschlag löslich. Reine Peptonlösung giebt auch bei beträchtlicher Concentration mit Gerbsäurelösung nur eine Trübung, jedoch sofort einen dichten Niederschlag, wenn in der Lösung Neutral-

---

1) A. Henninger, De la nature et du rôle physiol. des peptons. Paris 1878. 43.

2) A. Bömer, Ztschr. f. analyt. Ch. **34**. 562. 1895. — L. Krehl u. M. Matthes, Arch. f. klin. Med. **54**. 505. 1895.

3) F. Hofmeister, Ztschr. f. analyt. Ch. **20**. 319.

4) A. Hirschler, Ztschr. f. physiol. Ch. **11**. 28. 1887. — Schulze und Barbieri, Journ. f. Landwirthschaft **29**. 291 u. 287. 1881. — Maixner, Ztschr. f. klin. Med. **11**. 344. 1886.

salz enthalten ist, bei genügendem Salzgehalt der Lösung wird das Pepton noch in einer Verdünnung von 1 : 10 000 durch Gerbsäure als deutliche Trübung nachgewiesen. In Berührung mit Wasser giebt der Gerbsäureniederschlag Gerbsäure ab und Pepton geht in Lösung (F. Hofmeister).

c. Rhodankalium und Essigsäure, das Reagens von Zouchlos, schlägt Pepton nicht nieder (Schick).

d. Nach Dillner sowie Obermayer kann Pepton zwar auch durch Metaphosphorsäure gefällt werden, der Niederschlag löst sich aber leicht wieder in der überschüssigen Säure.

e. Die Niederschläge, welche das Pepton giebt mit Pikrinsäure, Salicylsulfonsäure, Asaprol, Aseptol, Trichloressigsäure, Wolframsäure, mit Chromsäure und mit Jodquecksilberkalium (Tanret's Reagens) lösen sich in der Wärme und treten in der Kälte wieder auf. Der Pikrinsäureniederschlag löst sich nach Johnson[1]) im Gegensatz zum Eiweiss in wenig kalter Salpetersäure.

f. Quecksilberchlorid fällt das Pepton aus neutraler Lösung, aber nicht aus essigsaurer. Spiegler's Reagens soll nach seiner Angabe zwar Albumose niederschlagen, aber nicht Harnpepton.

8. Von Metallsalzen fällen das Pepton, ausser den unter 7 genannten noch salpetersaures Quecksilberoxyd, essigsaures Blei und Ammoniak, salpetersaures Silber und wenig Ammoniak, Kupferoxydulsalz, Goldchlorid und Platinchlorid; basisch essigsaures Blei giebt nur eine Trübung. Mit Eisenoxydsalzen giebt es keinen Niederschlag, färbt sich aber mit ihnen roth wie andere Eiweisskörper und wie die Amidosäuren.

Eisenoxydsalz schlägt auch dann das Pepton nicht nieder, wenn die Flüssigkeit neutralisirt und darnach gekocht wird, während auf diese Weise ächte Eiweisskörper und ein Theil der Albumosen gefällt werden (dieser § VII. 1. 10. S. 471). Auch Kupfersulphat giebt nach Krehl und Matthes[2]) mit der neutralen Lösung des Harnpeptons keinen Niederschlag.

9. Die Farbenreactionen der Eiweisskörper (d. § F. S. 422) giebt das Pepton gleichfalls, die Xanthoproteinreaction schon in der Kälte; die Biuretreaction ist in Nichts von der des Albumins verschieden.

Die Biuretfärbung ist nach Hofmeister in einer 5 cm dicken Schicht noch sichtbar bei einer Verdünnung von 1 : 12 000, nach Schulze und Barbieri in 3—4 cm dicker Schicht nicht mehr bei einer Verdünnung von 1 : 10 000, wohl aber bei der halben Verdünnung.

10. Fibrinpepton liefert beim Schütteln mit Bromlauge nach Schulze und Barbieri auf 1 g Substanz 9,0 cc Stickstoff (0^0 und 760 mm Hg), beim Behandeln mit Kaliumnitrit und verdünnter Schwefelsäure nach Sachsse-Kormann 24,5 cc; Leimpepton auf 1 g mit Bromlauge 14,2 cc, mit salpetriger Säure 13,3 cc N_2.

C. *Nachweis.* 1. Zum Nachweis von Albumose überhaupt bedient man sich der unter VII. 1. 6 c, 7 u. 8 angegebenen Reactionen mit Salz

---

[1]) G. Johnson, Brit. med. Journ. 1883; Ztschr. f. analyt. Ch. 23. 115.
[2]) L. Krehl u. M. Matthes, a. a. O.

und Essigsäure, mit Salpetersäure und mit Ferrocyanwasserstoff. Es sind dieselben, welche zum Aufsuchen von Eiweiss im Harn verwandt werden.

a. Versetzt man einen albumosehaltigen Harn sogleich nach dem Kochen mit etwas Salpetersäure, so bleibt er klar und trübt sich nur schwach, indem er sich zugleich stärker gelb färbt; beim Erkalten oder Abkühlen entsteht aber ein starker weisser oder gelber oder röthlich gelber Niederschlag, der sich beim Erwärmen löst, beim Erkalten wiederkehrt. In der Kälte giebt der Harn auf Zusatz von wenig Salpetersäure einen Niederschlag, der beim Umschütteln wieder verschwindet, mit mehr Salpetersäure aber einen dauernden Niederschlag; dieser löst sich gleichfalls in der Wärme und tritt beim Erkalten wieder auf. — Diese Reaction ist nicht ganz sicher, weil bei der Einwirkung der Säure auf Eiweiss auch Albumose entstehen und andererseits weil wenig Albumose übersehen werden kann; albumosearmer Harn giebt selbst in der Kälte nur dann einen Niederschlag, wenn er mit sehr wenig Salpetersäure versetzt wird.

b. Bei der Prüfung des Harns mit Essigsäure und Ferrocyankalium entsteht ein Niederschlag, der sich in der Wärme löst und beim Erkalten wieder auftritt. Er löst sich auch in überschüssiger Essigsäure und, bei Abwesenheit von Heteroalbumose, auch in Neutralsalzlösungen (Kochsalz, Ferrocyankalium). In sehr salzreichen oder albumosearmen Harnen kann der Niederschlag (wenn nur oder vorwiegend die secundären Albumosen vorhanden sind) sehr schwach sein, er tritt aber mit unverkennbarer Deutlichkeit auf, wenn man den Harn vor der Reaction auf das Mehrfache verdünnt.

Für sich allein beweist ein auf Zusatz von Essigsäure und Ferrocyankalium entstehender Niederschlag Nichts für die Gegenwart von Albumose, da auch Eiweiss einen solchen giebt. Die Prüfung der Löslichkeit des Niederschlags in der Wärme ist nicht verlässlich, weil Ferrocyanwasserstoff in der Wärme für sich einen (blauen) Niederschlag bildet; auch die Prüfung des Niederschlags auf seine Löslichkeit in Essigsäure und in Salz ist unsicher. Tritt aber bei dieser Probe ein starker Niederschlag ein, dagegen in dem noch heissen Harn auf Zusatz von Salpetersäure keiner oder ein im Vergleich mit jenem nur schwacher, so ist die Gegenwart der Albumose gesichert. In albumosearmen (unverdünnten) Harnen kann auch der Ferrocyankalium-Niederschlag schwächer ausfallen als der ist, welcher in dem mit Salpetersäure versetzten gekochten Harn beim Erkalten auftritt.

c. Stellt man die Eiweissprobe durch Kochen des Harns mit Salz und Essigsäure nach Panum (S. 434) an, so bleibt Eiweiss ungelöst, in Anwesenheit von Albumose entsteht aber in der heiss filtrirten Flüssigkeit beim Erkalten ein Niederschlag. Dann tritt auch bereits beim Zusatz der Reagentien ein Niederschlag auf, der sich beim Kochen löst, während das Eiweiss abgeschieden wird. Dieses Verfahren schützt am Besten vor einer Verwechslung der Albumose mit Eiweiss.

Bei allen diesen Reactionen setzt sich die Albumose nur selten in scharf begrenzten Flocken ab; meist ist die Flüssigkeit nur gleichmässig getrübt, im günstigsten Fall lagern sich in der trüben Flüssigkeit undeutliche Flocken ab; die Niederschläge haben das Aussehen schlecht coagulirter Albuminlösungen.

d. Pikrinsäure (B. 7. e.) giebt mit Harn, auch wenn er nur wenig Albumose enthält, einen mächtigen, sehr feinflockigen gelben Niederschlag, der sich auch beim Erwärmen wieder löst und beim Erkalten wieder zum Vorschein kommt. Da normaler Harn beim Kochen mit Pikrinsäure einen grobflockigen Niederschlag giebt, so muss man den Harn heiss filtriren, wenn man sich von der Bildung eines beim Erkalten entstehenden Niederschlags mit Sicherheit überzeugen will.

e. Wie weit sich die übrigen Eiweissreagentien, deren Albumoseniederschläge in der Wärme löslich sind (B. 7. c.) für den Nachweis von Albumose im Harn eignen, ist nicht bekannt.

Der Trichloressigsäure-Niederschlag (VII. 1. 9) tritt nach Martin sehr schnell nach dem Kochen auf und man muss daher, wenn man ihn gesondert erhalten will, durch einen Wasserbadtrichter filtriren. Mit der Lösung des Niederschlags in Lauge lässt sich die Biuretreaction anstellen. — Jodquecksilberkalium fällt aus saurer Lösung Eiweiss, Albumose, Alkaloide; die Vorschrift zur Trennung derselben ist S. 440 angegeben. Das Reagens fällt übrigens nach Tanret oft aus normalem Harn eine nicht näher bekannte Substanz.

2. Die zum Nachweis von Harnpepton dienenden Proben sind solche, welche Eiweisskörper überhaupt anzeigen (allgemeine Eiweissreactionen). Sie dürfen also nur auf Harn angewendet werden, der frei von allen anderen Eiweisskörpern ist. Enthält der Harn Eiweiss, so muss dieses bis auf die letzten Spuren abgeschieden werden, wozu sich die Fällung mit Eisenchlorid (d. § I. D. 4. a.; S. 442) als das beste Verfahren empfiehlt; bloses Kochen des Harns ist völlig unzureichend. Enthält der Harn mucinähnliche Substanz in solcher Menge dass er sich auf Zusatz von Essigsäure merklich trübt, so versetzt man ihn mit nur so viel essigsaurem Blei, dass ein dichter flockiger Niederschlag entsteht.

a. Direkt im Harn lässt sich das Pepton, hauptsächlich wegen seiner meist zu geringen Menge, nicht nachweisen. Die dazu in Vorschlag gebrachten Proben können nur zu einer Vorprüfung dienen.

α. Nach Hofmeister[1]) versetzt man den Harn mit $^1/_5$ Volumen concentrirter Essigsäure und darauf mit Phosphorwolframsäure. Bleibt die Probe auch nach längerem Stehen völlig klar, so enthält der Harn kein Pepton; zeigt dagegen die Probe sofort oder nach einiger Zeit (10 Minuten) eine milchige Trübung, so kann der Harn Pepton enthalten.

Der negative Ausfall der Prüfung ist nicht ganz verlässlich; Brieger[2]) sah die Reaction in 8 Fällen ausbleiben, in welchen sich der Harn bei genauerer Untersuchung als peptonhaltig erwies.

β. v. Jaksch[3]) prüft den eiweissfreien Harn mittelst der Biuretprobe; tritt sie ein, so gilt der Harn als peptonhaltig.

Die Färbung ist nicht violett, sondern roth oder braunroth, weil der gelbe Harn das Blau des Violett auslöscht. Man kann nach dem Vorschlage von Posner[4]) die Kupfersulphatlösung auf den alkalisch gemachten Harn schichten; eine Lösung mit 5 cc kalt gesättigter Kupfersulphatlösung im Liter besitzt dazu die genügende Concentration.

γ. Die Petri'sche Diazoreaction (d. §, F. 5. S. 425) ist nicht auf den Harn anwendbar. Normaler Harn wird nach Pacanowski mit dem Reagens braunroth, ohne indes nach Brieger[5]) die übrigen Erscheinungen einer Peptonlösung zu zeigen, und Peptonharn verhält sich nach Brieger wie normaler.

---

1) Hofmeister, Ztschr. f. physiol. Ch. 5. 73. 1881.
2) O. Brieger, a. a. O. 42.
3) v. Jaksch, Mittheilungen des Wiener med. Doctorencollegiums 10; Jahresber. f. Thierchemie 1885. 238.
4) C. Posner, Du Bois' Archiv 1887. 495.
5) Pacanowski, Gazetta lekarska 19. 1884; Virchow-Hirsch's Jahresber. 1884. 1. 155; Ztschr. f. klin. Med. 9. 431. 1885. — Brieger, a. a. O. 43.

3. Sicherer gelangt man zum Ziele, wenn man das Pepton aus dem Harn abscheidet. Hofmeister[1]) hat dazu Fällung mit Phosphorwolframsäure oder mit Gerbsäure empfohlen. Von diesen beiden Methoden führt die erste nicht blos schneller zum Ziele, sondern sie giebt auch schärfere Resultate; während man mittelst der Gerbsäure nur dann noch Pepton im Harn nachweisen kann, wenn er 0,15 bis 0,20 g im Liter enthält, lässt sich mittelst der Phosphorwolframsäure noch 0,1 g im Liter auffinden.

a. Fällung mit Phosphorwolframsäure nach Hofmeister.

Um das Pepton aus dem Harn abzuscheiden, wird er (0,5 Ltr.), wenn nöthig, nach der unter C. 2 angegebenen Weise von Eiweiss und der mucinähnlichen Substanz befreit, dann zunächst mit 0,1 Vol. concentrirter Salzsäure und darauf abwechselnd mit Phosphorwolframsäure und Salzsäure versetzt, bis er mit keinem dieser Reagentien einen Niederschlag mehr giebt. Der Niederschlag wird bald abfiltrirt; denn lässt man ihn unter der Flüssigkeit stehen, so scheidet sich auf ihm ein zweiter röthlicher Niederschlag (von Harnsäure?) ab, welcher auf den späteren Nachweis des Peptons störend einwirkt. Der Niederschlag wird auf dem Filter mit einer Lösung von 3—5 Volumen concentrirter Schwefelsäure in 100 cc Wasser gewaschen, bis das Filtrat farblos abläuft, dann noch feucht mit überschüssigem festen Barytumhydrat innig verrieben, schliesslich nach Zusatz von etwas Wasser kurze Zeit gelinde erwärmt und filtrirt; bei stärkerem Erhitzen erhält man dunkel gefärbte Filtrate, was möglichst zu vermeiden ist. Auch kann man den Phosphorwolframsäureniederschlag in kohlensaurem Natron lösen. — Die neben dem Pepton aus dem Harn fallenden Substanzen beeinträchtigen den Nachweis des Peptons nicht.

Mit der Lösung stellt man die Biuretprobe an, welche, wegen der gelben Farbe der Lösung, wie beim Harn (C. 2. a. β) nur eine rothe Färbung ergiebt. Schichtet man die Kupfervitriollösung auf die Peptonlösung, so fällt langsam schwefelsaurer Baryt aus und die Biuretfärbung ist dann gut an der überstehenden klaren Flüssigkeit zu sehen. Die Flüssigkeit zu filtriren, ist nicht räthlich, weil sie dadurch die Färbung an Intensität einbüsst. Hat man den Phosphorwolframsäure-Niederschlag in kohlensaurem Natron gelöst, so kommt selbstverständlich die Störung durch den Barytniederschlag in Wegfall.

Die Peptonlösungen sind immer mindestens gelb; manche Harne, so stark icterische, liefern auch (direkt oder erst auf Zusatz von Natron) eine rothe Lösung, mit der sich die Biuretreaction gar nicht anstellen lässt. Die Entfärbung mittelst Thierkohle ist verwerflich, weil diese auch das Pepton leicht aufnimmt (Hofmeister, Schulze u. Barbieri). Dagegen lässt sich das von Schulze und Barbieri[2]) geübte Entfärben von Peptonlösungen aus Pflanzen mit einigen Tropfen concentrirter Bleizuckerlösung mit Vortheil auch auf den Harn anwenden. W. Fischel hat solche rothe Lösungen entfärben können, indem er sie nach dem Ansäuern mit Luft schüttelte. — Manche färbende Substanzen, wie Gallenfarbstoffe, lassen sich aus dem Harn im Voraus durch essigsaures Blei entfernen.

b. Salkowski[3]) hat dieses Verfahren in folgender Weise abgekürzt.

Es werden 50 cc Harn in einem Becherglas mit 5 cc Salzsäure (oder Essigsäure) auf dem Drahtnetz oder auf dem Wasserbad erwärmt, wobei sehr bald eine

[1]) Hofmeister, Ztschr. f. physiol. Ch. 4. 253 u. a. a. O.
[2]) Schulze u. Barbieri, a. a. O. 294.
[3]) Salkowski, Centralbl. f. d. med. Wiss. 1894. 113; Berliner klin. Wochenschr. 34. 353. 1897.

harzige Abscheidung erfolgt, welche sich entweder am Boden des Gefässes ablagert oder auf der Oberfläche der Flüssigkeit schwimmt. Man giesst die Flüssigkeit vom Niederschlag ab, oder filtrirt ihn ab, wenn er nicht aneinanderhaftet, spült ihn zweimal mit Wasser ab und löst ihn in ungefähr 10 cc 1 proc. Natronlauge. Die anfangs tiefblaue Lösung macht beim weiteren Erwärmen einer graugelben Platz; einige Tropfen Lauge beschleunigen die Entfärbung. Mit dieser Lösung nimmt man die Biuretreaction vor. — Enthält der Harn Eiweiss oder auch mucinähnliche Substanz, so müssen diese vor der Behandlung mit Phosphorwolframsäure entfernt werden. Ein Harn mit 0,02 % Pepton giebt bei Verwendung von 50 cc eine starke Reaction, ein solcher mit 0,015 % noch eine deutliche, bei 0,01 % ist sie jedoch zweifelhaft.

Aus urobilinreichen Harnen kann das Urobilin mit dem Phosphorwolframsäure-Niederschlag mechanisch ausgefällt werden und die Lösung giebt dann, auch in Abwesenheit von Pepton, die Biuretreaction. Eine Verwechslung des Urobilins mit dem Pepton ist aber nur dann zu fürchten, wenn der Harn direkt den Urobilinstreifen zeigt. Entfernung des Urobilins durch die Bleiacetate, durch Amylalkohol oder Kohle ist mit Verlust an Albumose verbunden. In solchem Falle stellt Salkowski die Probe nur mit 10—15 cc Harn im Reagensglas an; die Biuretreaction ist dann zwar blass, aber von reinerer Färbung.

c. Fällung mit Tannin nach Hofmeister.

Man fällt den (wenn erforderlich, nach C. 2 vorbereiteten) Harn mit Tannin aus, bringt den Niederschlag nach 24stündigem Stehen auf ein kleines Filter und wäscht ihn mit Wasser, in welchem etwas Tannin und schwefelsaure Magnesia gelöst sind. Der Niederschlag wird darauf in einer Schale mit gesättigtem Barytwasser gut verrieben und nach Zusatz einiger Stücke Baryumhydrat einige Minuten im Sieden erhalten; wird der Niederschlag nicht schon in der Kälte möglichst vollständig im Barytwasser vertheilt, so bäckt er in der Wärme leicht zu harzartigen Klumpen zusammen, welche vom Baryt dann nur langsam angegriffen werden. Nach dem Kochen filtrirt man in einen Kolben, fügt noch etwas Barytwasser hinzu und schüttelt die dunkelbraune Flüssigkeit so lang kräftig, bis das Filtrat farblos oder nur schwach gelb erscheint. Mit dem Filtrat stellt man die Biuretprobe an; dazu kann man vorher den Baryt durch Neutralisiren mit Schwefelsäure ausfällen.

Neumeister[1]) trocknet den Tanninniederschlag im Exsiccator, zerreibt ihn und erwärmt ihn, wenn nöthig mit dem Filter, mit dem Barytwasser und dem festen Baryt 3—5 Min. auf dem siedenden Wasserbad.

d. Das Verfahren von Devoto beruht darauf, dass Albumin und Globulin beim Erhitzen in einer gesättigten Ammonsulphatlösung völlig unlöslich werden, ein Albumoseniederschlag sich aber in Wasser wieder löst. Es bietet vor den anderen Methoden den Vortheil, dass man Eiweiss und mucinähnliche Substanz nicht besonders zu entfernen braucht.

Es werden in 200—300 cc Harn auf 100 cc 75 g fein gepulvertes Ammonsulphat in gelinder Wärme und unter fleissigem Rühren gelöst. Man lässt die Flüssigkeit dann 20—40 Min. in einem Dampftopf (einem bedeckten Topf) mit siedendem Wasser stehen. Man filtrirt heiss, bringt den Niederschlag auf das Filter, übergiesst ihn portionsweise mit siedendem Wasser und fängt die einzelnen Filtrate in Reagensgläsern auf. Die ersten Filtrate sind farblos, die späteren gefärbt; in der Regel ist aber das Pepton schon in den nicht oder wenig gefärbten Filtraten nachweisbar. Man stellt die Biuretprobe in der Weise an, dass man die

---

[1]) A. Neumeister, Ztschr. f. Biol. 30. 459. 1894.

Filtrate mit viel concentrirter Natronlauge mischt und mit verdünnter Kupfersulphatlösung überschichtet; nur bei einem so reichlichen Zusatz von Lauge tritt die Biuretfärbung auf, sonst nur eine Blaufärbung. — Wirft man in das Filtrat Ammonsulphat, so entsteht in der Umgebung des Salzes nach einiger Zeit eine Trübung; das Pepton wird durch das Salz gefällt. — Pekelharing[1]) weist das Pepton im Filtrat mittelst der Xanthoproteinreaction nach.

Man kann in mehreren Filtraten hintereinander das Pepton nachweisen; es lassen sich noch 2 mg Witte'sches Pepton mit aller Sicherheit auffinden. Nur bei bluthaltigem Harn versagt das Verfahren, weil das Hämoglobin nicht vollständig coagulirt wird.

Nach v. Jaksch geben beim Harn die Methoden von Hofmeister und von Devoto übereinstimmende Resultate. E. Robitschek hat unter v. Jaksch 25 Harne nach den Methoden von Hofmeister, Salkowski und Devoto untersucht und dabei 14 mal nach keinem Verfahren Pepton gefunden, dagegen 5 mal nach jeder Methode, 5 mal Pepton nach Hofmeister und nach Salkowski, aber nach Devoto keines und 1 mal blos nach Salkowski, aber zweifelhaft. W. Robitschek[2]) hat unter 537 Beobachtungen in 4 Fällen nach Hofmeister starke Reaction erhalten, wo Devoto negativ ausfiel und in 1 Fall nach Devoto starke Reaction wahrgenommen, während die Probe nach Hofmeister zweifelhaft ausfiel; in den übrigen Fällen stimmten die Resultate bei Hofmeister und bei Devoto überein.

e. Schultess bediente sich zur Abscheidung des Peptons, wie ehemals Gerhardt[3]), der Fällung mit Alkohol.

Von Haus aus eiweissfreier Harn wurde filtrirt und in der Absicht, die mucinähnliche Substanz zu fällen, vorsichtig mit Essigsäure versetzt. Von dem Filtrat wurden 25—30 cc mit dem 6 fachen Vol. absolutem Alkohol vermischt, der Niederschlag nach 12—24 Stunden abfiltrirt, in warmem Wasser gelöst, das Filtrat mit sehr verdünnter Essigsäure auf mucinähnliche Substanz untersucht und schliesslich zur Biuretprobe verwandt. Das Resultat wurde durch die Tanninprobe oder nach Salkowski nachgeprüft.

Krehl u. Matthes[4]) verarbeiteten die Lösung in der Weise weiter, dass sie dieselbe bei schwach saurer Reaction in der Siedehitze mit Ammonsulphat sättigten, den dabei entstandenen Niederschlag in heissem Wasser lösten, die Schwefelsäure mit Baryumhydrat ausfällten und das Filtrat, wenn es klar war, zur Vertreibung des Ammoniak eindampften. War darnach noch Schwefelsäure oder Baryt in Lösung, so wurden diese gefällt und mit der nur wenig Cubikcentimeter betragenden Flüssigkeit die Biuretprobe angestellt, oder sie wurde vorher noch in das 8 fache Volumen Alkohol eingetragen und der Niederschlag über Schwefelsäure im Luftstrom getrocknet.

4. Zur Auffindung des Histon gelangten Krehl und Matthes[5]) in folgender Weise.

Bei der Verarbeitung des nach 3. e erhaltenen Alkoholniederschlags kam es vor, dass das Baryumsulphat immer wieder durch das Filter ging, und dass,

---

1) L. Devoto, Ztschr. f. physiol. Ch. **15**. 465. 1891. — C. A. Pekelharing, Untersuchungen über das Fibrinferment, Amsterdam 1892. 46.

2) v. Jaksch, Ztschr. f. physiol. Ch. **16**. 243. 1891. — E. Robitschek, Prager med. Wochenschr. 11. 1896. 116. — W. Robitschek, Ztschr. f. klin. Med. **24**. 556.

3) E. Schultess, Arch. f. klin. Med. **58**. 330. 1897. — C. Gerhardt, Arch. f. klin. Med. **5**. 214. 1868.

4) L. Krehl u. M. Matthes, Arch. f. klin. Med. **54**. 505.

5) Krehl u. Matthes, a. a. O. 508.

wenn endlich nach tagelangem Filtriren ein klares Filtrat erhalten worden war, dieses die Biuretreaction nicht mehr gab. Durch Wasser oder durch verdünntes Ammoniak konnte dem Niederschlag die Eiweisssubstanz nicht entzogen werden, wohl aber durch verdünnte Salzsäure und aus dieser Lösung konnte der die Biuretreaction gebende Eiweisskörper wieder durch Ammoniak und Baryt gefällt werden.

Kolisch und Burian[1]) wuschen den Alkoholniederschlag aus dem eiweissfreien oder enteiweissten Harn mit heissem Alkohol, lösten ihn in heissem Wasser und säuerten die Lösung nach dem Erkalten mit Salzsäure an. Nach mehrstündigem Stehen wurde der grösstentheils aus Harnsäure bestehende Niederschlag abfiltrirt und das Filtrat mit Ammoniak versetzt, wobei neben Mineralbestandtheilen das Histon ausfällt. Der Niederschlag wurde solang mit ammoniakalischem Wasser gewaschen, bis das Filtrat keine Biuretreaction mehr gab und der Niederschlag in Essigsäure gelöst. Mit dieser Lösung wurde die Biuretreaction erhalten; sie gab ferner beim Kochen einen Niederschlag, welcher sich in Mineralsäure auflöste.

4. Die Heteroalbumose des Harns.

A. *Vorkommen.* Fälle von typischer Albumosurie, bei welcher eine der Heteroalbumose ähnliche Substanz constant im Harn vorkommt, sind sechs beschrieben worden, nämlich je ein Fall von H. Bence Jones und Mac Intyre, von Kühne, von Kahler und mir, von Ribbink, von Byrom-Bramwell und Noël-Paton, von Matthes.

Hugounenq[2]) rechnet hieher noch, wohl aber ohne ausreichenden Grund, die oben (S. 474) erwähnten Fälle von Albumosurie bei Nephritis. — Wiewohl der fragliche Eiweisskörper nur in den allgemeinen Eigenschaften mit der Verdauungsheteroalbumose übereinstimmt, behalte ich die zuerst von Kühne gebrauchte Bezeichnung bei. Diese Albumosurie verhält sich zu der vorübergehenden, wie der Diabetes mellitus zur Glykosurie und es ist daher für sie der Name typische Albumosurie berechtigt.

Alle beschriebenen Fälle betrafen Männer. In vier derselben bestand Knochenerweichung (vorzugsweise der Wirbelsäule und des Brustkorbs), als deren Ursache Kahler in seinem Fall multiples Myelom bezeichnete. In dem Fall von Ribbink fanden sich nach Stokvis und nach Zeehuisen[3]) am Periost, im Bindegewebe, in den Muskeln und an den serösen Häuten zahlreiche, stecknadelkopf- bis faustgrosse Sarkome; die Knochen enthielten als Mark eine rothe gallertige Masse und waren ausserordentlich brüchig (Osteoporosis). Der Fall von Byrom-Bramwell und Noël Paton bot ausser der Albumosurie nichts Pathologisches dar.

1) R. Kolisch u. R. Burian, Ztschr. f. klin. Med. **29**. 377. 1896.

2) H. Bence Jones, Philos. Transact. 1848. **1**. 55; Ann. d. Ch. u. Pharm. **67**. 97. — W. Kühne, Verhandl. d. naturhist. med. Vereins zu Heidelberg **2**. 1. Heft; Ztschr. f. Biol. **19**. 209. 1883; **20**. 40. 1884. — Huppert, Prager med. Wochenschr. 4. 1889. — H. C. G. L. Ribbink, Een geval van albumosurie. Amsterdamer Diss. Gorinchem 1892. — Byrom-Bramwell u. D. Noël-Paton, Reports from the laboratory of the R. Coll. of Physicians, Edinburgh, **4**. 47. 1892. — Huppert, Ztschr. f. physiol. Ch. **22**. 501. 1897. — M. Matthes, Verh. d. XIV. Congresses f. inn. Med. 476. 1896. — L. Hugounenq, Journ. de chim. et de pharm. [6] **5**. 427; Chem. Centralbl. 1897. **1**. 1216.

3) Ribbink, a. a. O. — B. J. Stokvis, Tijdschr. voor Geneesk. 1891. **2**. 136; Jahresb. f. Thierch. 1891. 412. — H. Zeehuisen, Tijdschr. 1893. **1**. 829; Jahresb. f. Thierch. 1893. 577.

In vielen anderen Fällen von (ächter) Osteomalacie wurde die Albumose nicht gefunden, auch nicht, von Stokvis[1]), bei einem Osteosarcom, und von v. Jaksch nicht bei Rhachitis.

B. *Eigenschaften des Harns und der Albumose.*

Trotz der zahlreichen Einzelbeobachtungen ist es nicht möglich, sie zu einem Ganzen zusammenzufassen. Manche Wahrnehmungen wurden nur einmal gemacht, und bei wiederholten Beobachtungen stimmen die Resultate keineswegs immer überein, ohne dass sich ein Grund für die Verschiedenheit erkennen lässt. Möglicher Weise waren die untersuchten Substanzen verschieden, möglicher Weise nicht einheitlich, sicher aber in den meisten Fällen nicht rein.

Krystallisirt ist der Eiweisskörper nur einmal erhalten worden (5); die Analyse dieses stimmt mit denen zweier (1 u. 2) amorpher soweit überein, wie bei ein und demselben Eiweisskörper von verschiedener Darstellungsweise. Die krystallisirte Substanz ist phosphorfrei befunden worden; in drei anderen Fällen (1, 2 u. 6) wurde in dem amorphen, also minder reinen Präparat etwas Phosphor nachgewiesen; das eine derselben (6) lieferte bei der Pepsinverdauung ein Nuclein. Die krystallisirte Substanz (5) war unlöslich in Wasser, in gesättigter Kochsalzlösung, in 100 proc. Magnesiumsulphatlösung, nur wenig löslich in 16 proc. Ammonsulphatlösung, aber in verdünnteren Neutralsalzlösungen. Einmal (3) wurde beobachtet, dass der Eiweisskörper durch Sättigen des Harns mit Kochsalz in der Wärme vollständig abgeschieden wurde; in einem andern Fall (4) war die Fällung mit Magnesiumsulphat unvollständig, mit Ammonsulphat dagegen vollständig. Einmal (6) dialysirte die Substanz nur spurenweise, in einem anderen Fall (4) dialysirte sie zwar gegen Wasser, aber nicht gegen 1 proc. Kochsalzlösung. Durch Alkohol wurde sie gefällt, der Niederschlag löste sich mehr oder minder vollständig in Wasser (2, 4).

In salzhaltiger, schwach saurer Lösung (auch im Harn) coagulirt der Eiweisskörper bei ungefähr 60° (2—6), doch erweist sich der Coagulationspunkt abhängig vom Salzgehalt und der Reaction der Flüssigkeit. Wo darauf geachtet wurde (2, 3, 4, 6), zeigte sich, dass das in saurer Lösung entstandene Coagulum bei höherer Temperatur wieder in Lösung ging und beim Erkalten wieder auftrat. Die Substanz wird bei der Coagulationstemperatur unvollständig gefällt (2, 4), der Art, dass jedes folgende Filtrat beim Erwärmen wieder (in geringerem Maasse) einen Niederschlag giebt (4). Das Coagulum unterscheidet sich von einem Eiweissniederschlag dadurch, dass es klebrig ist und sich in Wasser wieder löst (1, 2, 4); es löste sich das Coagulum

[1]) Stokvis, Ztschr. f. Biol. 19. 215. 1881.

in Sodalösung und verhielt sich darnach wie die ursprüngliche Substanz. Kupfersulphat gab mit der Substanz einen Niederschlag (1). Der mit Ferrocyanwasserstoff erhaltene Niederschlag war in einem Fall (3) unlöslich in Kochsalz. In zwei Fällen (2, 6) wurde die Substanz durch Zusatz von Lauge der Art verändert, dass sie beim Neutralisiren mit Essigsäure einen Niederschlag gab, ein Verhalten ähnlich dem bei der Umwandlung eines Globulins in Protein oder der Albumosatbildung bei der Heteroalbumose: in einem anderen Fall (4) konnte diese Veränderlichkeit der Substanz nicht wahrgenommen werden.

1. Fall von Bence-Jones. Der bald saure, bald schwach alkalische Harn besass eine Dichte von 1,031—1,043. Tägliche Harnmenge ungefähr 1 Liter. Sediment von krystallinischem und amorphem Calciumphosphat, Uraten, Calciumoxalat, spärlichen Cylindern. Der Harn enthielt 10,9—12,6 % feste Bestandtheile, davon 6,7 % des Eiweisskörpers und 1,16 % Mineralbestandtheile. Der Harn hielt sich in einem offenen Glase einen Monat lang, ohne alkalisch zu werden. Er gab nur bei schwach alkalischer, nicht bei saurer Reaction, beim Erwärmen einen dicken Niederschlag, sehr vollständig auf Zusatz von 1—2 Tropfen Essigsäure. Nach Zusatz einer grösseren Menge Kalilauge oder Ammoniak coagulirte der Harn beim Kochen nicht. Ferrocyankalium (und Essigsäure) gab erst in 1/2 Stunde einen beträchtlichen, in Kalilauge löslichen Niederschlag. Auch Salpetersäure erzeugte nicht sofort, sondern erst nach einigem Stehen einen Niederschlag, der beim Erwärmen in Lösung ging. Wurde der heisse Harn mit Salpetersäure versetzt, so löste sich das Coagulum, wenn es entstanden war. Der Harn nahm eine röthliche Farbe an und beim Erkalten schied sich ein starker Niederschlag ab, der sich beim abermaligen Erwärmen wieder löste. Salzsäure verhielt sich wie Salpetersäure. Starke Essigsäure gab nur einen schwachen, in der Wärme löslichen Niederschlag.

Alkohol fällte den Eiweisskörper. Er wurde mit Alkohol vollständig gewaschen, und vacuumtrocken mit heissem Aether erschöpft. Die getrocknete Substanz löste sich langsam aber vollständig in kaltem Wasser, schneller in warmem. Erst bei 10 Minuten langem Kochen trat ein gallertiger Niederschlag auf, der sich bei weiterem unter Ersatz des verdunsteten Wassers vorgenommenen Kochen in einer Stunde wieder vollständig löste. Sie löste sich gleichfalls in Kalilauge, die Lösung wurde beim Neutralisiren mit Essigsäure nicht gefällt, aber durch einen mässigen Ueberschuss von Essigsäure; dieser Niederschlag löste sich in der Wärme, sowie in einem grösseren Ueberschuss von Essigsäure. In der mit Essigsäure angesäuerten Lösung gab Ferrocyankalium sofort einen weissen, in Kalilauge löslichen Niederschlag. Die wässrige Lösung gab mit Salpetersäure einen Niederschlag, der sich in der Wärme leicht und vollständig löste; Kochen liess die Lösung klar, beim Erkalten trat der Niederschlag wieder auf. Die wässrige Lösung gab mit Kupfersulphat und mit Quecksilberchlorid Niederschläge, welche sich in Essigsäure lösten, der Kupfersulphatniederschlag löste sich in Kalilauge mit prächtiger tiefblauer Farbe, die beim Kochen karminroth wurde. Starke Salzsäure löste die Substanz mit schön purpurblauer Farbe. Nach dem Kochen der Lösung mit Kalilauge gab Bleiacetat einen schwarzen Niederschlag.

Bei der Analyse gab der Eiweisskörper, nach Abzug von 2,85 % Asche, im Mittel 52,05 % C, 7,09 H, 15,03 N, 1,16 S und 0,20 P.

2. Fall von Kühne. Harn stark sauer, von 1,022—1,025 Dichte, mit Sediment von Harnsäure und auffallend schwach gefärbtem krystallisirten Natriumurat, Albumose in amorphen Körnchen, einzelnen Leucocyten, keine Cylinder. Der Harn schäumte stark, filtrirte aber leicht. Beim Erhitzen trübte sich der Harn stark, dann traten grosse weisse Flocken auf, welche sich noch vor dem Sieden vollkommen lösten; beim Abkühlen erst milchige Trübung, dann klebrige Flocken,

die sich beim Erwärmen wieder lösten und beim Abkühlen wieder auftraten, eine Erscheinung, welche von Bence Jones nicht erwähnt wird. Das Filtrat des gekochten und abgekühlten Harns trübte sich zwar bei neuerlichem Erwärmen nicht, enthielt aber noch Albumose. Das Coagulum löste sich in Wasser. Salpetersäure erzeugte im Harn einen Niederschlag, der sich in überschüssiger Säure mit gelber Farbe löste; beim Erwärmen der Lösung wurde die Färbung stärker, es entstand aber kein Niederschlag, auch nicht beim Abkühlen. Der Salpetersäureniederschlag löste sich auch in der Wärme und kehrte in der Kälte wieder, wie in dem Fall von Bence Jones. Concentrirte Salzsäure verhielt sich wie die Salpetersäure; Neutralisiren des Harns mit fixem Alkali oder mit Ammoniak, schwaches oder stärkeres Ansäuern mit Essigsäure, Einleiten von Kohlensäure in den 10-fach verdünnten Harn bewirkten keine Ausscheidungen. Beim Kochen mit überschüssiger Salzsäure wurde der Harn violett; der Harn gab ferner die Millon-sche und die Biuretreaction (roth und violett, beim Kochen schmutzig braunroth), beim Kochen mit Kalilauge und Bleisalz färbte er sich braunschwarz. Tannin, Pikrinsäure, Essigsäure und Ferrocyankalium, Essigsäure und concentrirte Kochsalzlösung gaben Niederschläge.

Kochsalz im Ueberschuss bewirkte keine Trübung; die Mischung coagulirte beim Erwärmen stark und klärte sich beim Kochen nicht. Ein Ueberschuss von Essigsäure (ohne Salz) hob die Coagulation in der Wärme auf; beim Neutralisiren des abgekühlten Harns entstanden weisse Flocken, die beim Kochen verschwanden und beim Erkalten wiederkehrten. Auch der mit einigen Tropfen Natriumhydrat versetzte und darauf filtrirte Harn gab beim Neutralisiren mit Essigsäure einen Niederschlag, nicht aber der mit Natroncarbonat oder mit Ammoniak behandelte Harn; auch dieser Neutralisationsniederschlag löste sich in der Wärme und trat beim Erkalten wieder auf.

Die Trübung des Harns beim Erwärmen trat bei 43 ⁰ ein; bei 45 ⁰ flockige Ausscheidung, die bis 50 ⁰ noch zuzunehmen schien. Alkohol fällte den Eiweisskörper vollständig; der mit absolutem Alkohol höchst sorgfältig gewaschene, gummiartige hellgelbliche Niederschlag löste sich in kaltem Wasser vollständig; die neutrale Lösung begann sich jetzt bei 52 ⁰ zu trüben und schied bei 59—60 ⁰ compactere Flocken ab. Der mit Wasser gewaschene Coagulationsniederschlag wurde in wenig heissem Wasser gelöst, gab dann wie vorher alle charakteristischen Reactionen, trübte sich aber beim Erkalten nicht.

Die Substanz enthielt 0,31—1,28 % Asche und gab bei der Analyse 52,13 % C, 6,83 H und 16,55 N (sie enthielt auch Schwefel).

Die mit Alkohol ausgefällte, längere Zeit trocken aufbewahrte Albumose löste sich nach Kühne nur noch theilweise mit stark saurer Reaction in Wasser und stimmte dann in ihrem Verhalten mit keiner der bekannten Albumosen mehr überein; sie ist verändert gewesen.

3. Fall von Huppert. Der mit alkalischer Reaction entleerte Harn, mit nur 0,3 % des Eiweisskörpers, trübte sich nach schwachem Ansäuern mit Essigsäure beim Erwärmen weit unter der Siedehitze stark milchig und klärte sich beim Erhitzen bis zum Kochen, jedoch nicht vollständig; beim Erkalten setzte der Harn einen starken, undeutlich flockigen Niederschlag ab (ungefähr 0,1 Volumen). Der auf das Fünffache verdünnte (angesäuerte) Harn verhielt sich beim Erhitzen wie der unverdünnte. Die Trübung begann bei 53 ⁰ und erreichte ihr Maximum bei 59 ⁰.

Anders verhielt sich derselbe Harn vor dem Ansäuern bei ursprünglich alkalischer Reaction. Dieser trübte sich erst beim vollen Kochen milchig und zwar nur schwach, und die Trübung blieb bei anhaltendem Kochen unverändert. Auch war es zweifelhaft, ob die Trübung beim Erkalten zunahm. Die beim Kochen auftretende Trübung rührte ohne Zweifel, wenn nicht ganz, so doch zum grössten Theil, von einem Phosphatniederschlag her, und die Albumose war wenigstens zum grössten Theil in Lösung geblieben. Nach dem Verdünnen auf das Fünffache verhielt sich der nativ alkalische Harn beim Erhitzen wie der unverdünnte.

Der Harn gab übrigens die für die Albumose charakteristischen Reactionen. Die beim Kochen des angesäuerten Harns entstandene Trübung verschwand auf Zusatz von Salpetersäure zu der noch heissen Flüssigkeit fast vollständig, während sich der Harn stärker gelb färbte und am Boden des Glases eine wolkige Trübung auftrat; bei weiterem Erkalten schied sich dann allmählich ein dicker, nicht flockiger, weisser oder mehr oder minder gelber bis orangerother Niederschlag ab, der sich später erst beim Kochen bis auf einige Flocken löste und beim Erkalten wiederkehrte. Essigsäure und Ferrocyankalium erzeugte in dem kalten Harn einen starken Niederschlag, der viel bedeutender war, als der in der Wärme entstandene. Besonders bemerkenswerth war, dass der Ferrocyanniederschlag nach dem Verdünnen des Harns mit 5 proc. Kochsalzlösung auf das Fünffache wie in einer Heteroalbumoselösung nicht merklich geringer ausfiel, als nach dem Verdünnen mit Wasser.

Bei 12 stündiger Digestion des Harns mit überschüssigem Steinsalz bei 40 ⁰ wurde die Albumose bis auf eine geringe noch durch Essigsäure völlig fällbare Menge abgeschieden, bei mehrtägiger Digestion dagegen vollständig. Von dem Niederschlag löste sich nur wenig in Wasser (Dysalbumose). Er löste sich aber leicht in kohlensaurem Natron beim Erwärmen und liess sich durch Salzsäure oder Essigsäure aus der Lösung wieder bis auf Spuren abscheiden.

4. Fall von Ribbink. Tägliche Harnmenge 1,5—2,5 Ltr., Dichte 1,012 bis 1,019. Der saure Harn beginnt sich bei 57—58⁰ zu trüben; bei 60⁰ feine Flocken, die bei 65—72⁰ gröber werden und am Glase kleben und sich bei längerem Erwärmen auf 70⁰ wieder theilweise, noch besser beim Sieden lösen. Beim Erkalten wird der Harn milchweiss. Im alkalischen Harn tritt die Coagulation erst in höherer Temperatur ein und der Niederschlag löst sich dann nicht in der Wärme.

Der coagulirende Eiweisskörper färbte sich beim Kochen mit Salzsäure violett, gab die Xanthoproteinreaction, die Proben von Adamkiewicz und von Millon, die Biuretprobe, die Probe mit concentrirter Schwefelsäure und Zucker und färbte sich beim Kochen mit Kalilauge und Bleiacetat schwarz. Ausserdem waren die mit Mineralsäuren, mit Essigsäure und Salz und mit Pikrinsäure, sowie die in saurer Lösung durch Metallsalze erhaltenen Niederschläge in der Wärme ganz oder fast ganz löslich, der durch Alkohol hervorgebrachte vollständig. Der Harn gab die Heller'sche Eiweissprobe, manchmal aber trat sie langsam ein.

Die Fällung des Eiweisskörpers durch Erhitzen war nicht vollständig. Wurde der saure Harn einige Zeit auf 57—65⁰ erwärmt und nach vollständigem Erkalten filtrirt, so gab das Filtrat beim Erwärmen auf dieselbe Temperatur wieder einen Niederschlag, und das Filtrat von diesem gleichfalls. Erst der auf 70—72⁰ erwärmte, dann erkaltete und filtrirte Harn trübte sich, namentlich wenn er vor dem Erwärmen mit ein wenig Essigsäure versetzt war, beim Erwärmen nicht wieder. Das Filtrat enthielt aber noch Eiweiss. Es gab die Heller'sche Eiweissprobe, wenn auch erst nach langer Zeit. Kleine Mengen Salpetersäure, Salzsäure oder Schwefelsäure trübten das Filtrat nicht, beim Erwärmen trat Trübung ein, beim Kochen Aufhellung und beim Erkalten wieder milchige Trübung; bei Zusatz grösserer Mengen der genannten Säuren blieb diese Erscheinung aus. Die Xanthoproteinreaction trat dabei sehr schön auf. — Chlornatrium, Chlorammon, Magnesiumsulphat gaben selbst in grossen Mengen in der Kälte keinen Niederschlag, bei ungefähr 70⁰ aber eine starke Trübung, die beim Kochen zunahm und beim Erkalten blieb. Ammonsulphat fällte schon in der Kälte, wie es schien vollständig. Essigsäure und Kochsalz oder Ferrocyankalium gaben in der Wärme Trübung, die beim Kochen verschwand und in der Kälte wiederkehrte. — Pikrinsäure, Sublimat, Tannin gaben starke Niederschläge, die beim Kochen zunahmen. — Die Flüssigkeit gab die Biuret- und die Millon'sche Reaction. — Dieser Eiweisskörper scheint im Harn selbst nicht enthalten zu sein, denn das Filtrat von Harn, in welchem durch Salpetersäure ein starker Niederschlag entstanden war, blieb beim Erwärmen und Abkühlen vollständig klar; und Harn, aus welchem durch Kochsalz und Essigsäure das Eiweiss in der Kälte niedergeschlagen war, blieb beim Erwärmen gleichfalls vollkommen klar.

Nach Zusatz einer gewissen geringen Menge Säure, welche nach der Art der Säure verschieden war, trübte sich der Harn bei 54—55^0, coagulirte vollständig bei 70—72^0 und klärte sich beim Kochen vollständig. Das klare Filtrat des erkalteten Harns blieb beim Erwärmen, Kochen und Abkühlen klar; war ihm aber ein Tropfen gesättigte Kochsalzlösung zugesetzt, so trat beim Erwärmen ein Niederschlag auf, der sich beim Kochen löste. Grössere Mengen Säure liessen den Harn beim Erwärmen und Kochen klar, es trat aber beim Abkühlen noch Trübung ein, welche bei noch grösseren Säuremengen auch ausblieb. Kochsalz gab dann in der Kälte noch einen Niederschlag. Wurde diese Grenze des Säurezusatzes überschritten, dann blieb der Harn beim Kochen trüb; je mehr Kochsalz vor dem Kochen zugesetzt wurde, desto weniger Eiweiss löste sich beim Kochen.

Phosphorsäure und Milchsäure fällten, in den verschiedensten Mengen, in der Kälte nicht. Viel Salpetersäure, Salzsäure oder Schwefelsäure gaben in der Kälte einen Niederschlag, welcher sich in sehr viel Säure oder beim Erwärmen löste. Auf 10 cc Harn waren dazu von den 10proc. Säuren erforderlich 0,015 cc Schwefelsäure, 0,075 Salzsäure, 0,150 Salpetersäure, 0,4—0,5 Milchsäure, 0,5—0,7 Phosphorsäure (H_3PO_4), 1 cc Essigsäure; diese Säuremengen sind einander nicht äquivalent. Viel Essigsäure liefert in der Kälte sowie beim Abkühlen nach dem Kochen eine trübe Gallert, welche beim Erwärmen schmolz; die Gallert fiel am Vollkommensten aus bei Zusatz von 4 cc 50procentiger Säure zu 10 cc Harn.

Ammoniak verwandelte den Harn bei 40—50^0 in 24 St. in eine Gallert. Der alkalisch gemachte oder von Haus aus alkalische Harn trübte sich erst bei 58—59^0 und schied bei weiterem Erwärmen grobe, schnell zu Boden sinkende, nicht klebende Flocken ab. Beim Abkühlen trat keine Trübung ein.

Selbst grosse Mengen Chlornatrium fällten aus alkalischem Harn in einigen Tagen Nichts. Zusatz einer kleineren oder grösseren Menge concentrirter Kochsalzlösung erschwerte die Auflösung der Albumose in der Kochhitze; wenn der Harn nicht stärker sauer gemacht wird, kann diese Eigenschaft bei salzreichem Harn fehlen. Bei einem grossen Säureüberschuss, wie bei der Probe von Heynsius (S. 434), löste sich trotz der Anwesenheit von viel Salz, der Niederschlag in der Wärme und kehrte in der Kälte wieder. — Beim Sättigen des Harns mit Magnesiumsulphat in der Kälte durch 48 St. wurde viel Eiweiss niedergeschlagen. Das Filtrat trübte sich beim Stehen stark, und das Filtrat hiervon coagulirte in der Wärme, wurde beim Kochen klarer, beim Erkalten trüb, aber es fiel nicht alle in Lösung gegangene Substanz wieder aus. Der dialysirte Niederschlag gab sowohl mit 1proc. Kochsalz als mit einer Spur Essigsäure die Albumosereaction (Lösung in der Wärme etc.). — Ammonsulphat fällte die Albumose vollständig. Der mit Alkalien oder Säuren versetzte Harn gab bei nachträglichem Neutralisiren keinen Niederschlag.

Bei der Dialyse gegen 1proc. Kochsalzlösung gab der Harn kein Eiweiss ab, gegen destillirtes Wasser jedoch Albumose. Der 24 St. gegen fliessendes Wasser dialysirte Harn reagirte alkalisch, coagulirte bei 55^0 und verhielt sich sonst wie der alkalische Harn. Nach dem Ansäuern mit Essigsäure konnte der dialysirte Harn durch Kochen nicht von der Albumose befreit werden; jedes folgende Filtrat enthielt noch solche; die Fällung war also entweder nicht vollständig oder es löste sich nach dem Abkühlen bei Zimmertemperatur wieder Albumose auf. Nach dem Zusatz von Kochsalz war die Fällung aber eine vollständige.

Die durch Kochen aus dem Harn abgeschiedene Albumose bildete eine spröde, bröcklige Masse, die mit Kali gelb, mit Salpetersäure orange wurde. Sie löste sich beim Kochen mit verdünnter Essigsäure grösstentheils und beim Erkalten entstand ein Niederschlag; das Filtrat verhielt sich in der Wärme wie die ursprüngliche Lösung und jedes folgende Filtrat ebenso. Zusatz von Kochsalz erschwert die Lösung und macht die Fällung in der Wärme vollständiger. Aus einer mit Essigsäure in verschiedenem Grade angesäuerten Lösung liess sich

bei Zusatz einer entsprechenden Menge Kochsalz alles Eiweiss durch Kochen fällen; aus sehr stark saurer Lösung wurde die Albumose schon in der Kälte durch Kochsalz niedergeschlagen.

Die coagulirte Albumose löste sich bei 40 ^{0} in Wasser besser als in 1 proc. Kochsalzlösung, in dieser nur sehr wenig. Sie löste sich leicht in 0,2 proc. Salzsäure, die Lösung blieb beim Neutralisiren klar, gab aber beim Kochen einen feinflockigen Niederschlag. Das Filtrat enthielt noch Albumose, trübte sich aber beim Erwärmen nicht.

Mit Pepsinsalzsäure bildete die Albumose eine klare Lösung und wurde verdaut.

Das gleiche Vol. 95 proc. Alkohol trübte den Harn stark; die Trübung verschwand beim Kochen und kam beim Abkühlen wieder. Das doppelte Vol. Alkohol schlug beinahe alles Eiweiss nieder, nach einigen Tagen war die Fällung vollständig. Der Niederschlag löste sich in 50 proc. Alkohol beim Kochen und trat in der Kälte wieder auf. In feuchtem Zustand schmolz der Niederschlag beim Erwärmen bis zur Kochhitze und wurde bei der geringsten Abkühlung wieder fest. Mit kaltem Wasser gab der Niederschlag eine milchweisse Flüssigkeit, die beim Kochen klar wurde und sich beim Erkalten trübte; das Filtrat enthielt Albumose. Der Niederschlag löste sich in 0,5 proc. Phosphorsäure langsam aber vollständig, Kochen liess die Lösung unverändert, Zusatz von etwas Kochsalz bewirkte Trübung beim Erwärmen. In 0,3—1 proc. Kochsalzlösung löste sich der Niederschlag schlecht, in der Wärme trübte sich die Lösung stärker und wurde beim Kochen nicht ganz klar; die mit Essigsäure versetzte Flüssigkeit wurde beim Kochen klar und trübte sich beim Erkalten. Wurde der Harn mit soviel Milchsäure oder Salzsäure versetzt, dass er sich beim Kochen klärte, so gab ein Vol. Alkohol einen Niederschlag, der sich leicht in Wasser löste, die Lösung blieb beim Kochen unverändert und zeigte das Verhalten der Albumoselösungen erst auf Zusatz von wenig Kochsalz. — Beim Kochen fiel aus der Lösung des Alkoholniederschlags die Albumose nicht vollständig, jedes folgende Filtrat enthielt noch coagulable Albumose.

Die mit Alkohol oder durch Kochen gefällte Albumose löste sich leicht in verdünnter Säure, wenn auch langsam; die Lösung blieb in der Wärme unverändert und gab beim Neutralisiren erst dann einen Niederschlag, wenn sie gekocht worden war. Nach Zusatz von Alkali und Salz verhielt sie sich wie eine gewöhnliche Albumoselösung. In 1 proc. Kochsalzlösung löste sich die isolirte Albumose bei neutraler Reaction erheblich weniger als in Wasser, die neutrale wässrige Lösung liess sich aber mit Kochsalz in jedem Verhältniss mischen, ohne einen Niederschlag zu geben. Die wässrige Lösung der beiden Albumosen gab nach Zusatz von Säure und von Salz in einem bestimmten Verhältnisse Albumosereaction, die Löslichkeit in der Wärme war dabei abhängig von der Menge der Säure, die Grösse des beim Erkalten entstehenden Niederschlags von der Menge des Kochsalzes. Erst beim Sättigen des Harns mit Kochsalz und einem Ueberschuss von Essigsäure gelang es, alle Albumose zu fällen. Durch die Coagulation verlor die Albumose keine ihrer Eigenschaften.

5. Fall von Byrom-Bramwell und Noël-Paton. Dieser Fall ist darum von hervorragender Bedeutung, weil der in ihm enthaltene Eiweisskörper krystallisirt erhalten wurde. Tägliche Harnmenge ungefähr 1,5 Ltr., hohe Dichte (1,030), Reaction sauer. Eiweissgehalt gewöhnlich 2—3 % (1,5—7,5). Cylinder oder Epithelien nicht vorhanden. Beim Erwärmen des Harns trat erst milchige Trübung ein, dann folgte plötzlich die Abscheidung einer fasrigen, fibrinähnlichen, klebenden, dehnbaren und elastischen Masse; der Harn erstarrte dabei fast in ganzer Masse. Die Coagulation begann bei 59—60 ^{0} und war bei 62 ^{0} vollendet.

Beim Aufbewahren schied der Harn in der Regel den Eiweisskörper krystallinisch ab, manchmal schon nach 1—2 Tagen, manchmal erst nach Wochen und Monaten. Das entstandene krystallinische Sediment machte bei der ersten Wahrnehmung

desselben 1/5 des Harnvolumens aus. Nach Noël Paton konnte der Eiweisskörper auch ausserhalb des Harns zur Krystallisation gebracht werden, wenn der frische Harn mit dem gleichen Volumen gesättigter Ammonsulphatlösung vermischt, der entstandene Niederschlag mit halbgesättigter Ammonsulphatlösung gewaschen und in einem Pergamentschlauch nach Zusatz von etwas Thymol erst 3 Tage gegen fliessendes Wasser, dann noch 48 Stunden gegen oft gewechseltes destillirtes Wasser dialysirt wurde.

Die spontan entstandenen und die in angegebener Weise erhaltenen Krystalle waren gleich. Sie bildeten farblose lange schmale Tafeln mit zweiflächiger stumpfwinkliger Zuspitzung. Aus ihren Lösungen (Harn) schieden sie sich in kugligen Aggregaten höchstens von Stecknadelkopfgrösse aus. Sie waren unlöslich in kaltem und in heissem Wasser, sowie in Alkohol, aber löslich in verdünnten Neutralsalzlösungen. In gesättigter Chlornatriumlösung lösten sie sich nicht, aber in verdünnterer; nicht in 100 proc. Magnesiumsulphatlösung, aber in 93 proc.; theilweise in 16 proc. Ammonsulphatlösung, vollständig aber in verdünnterer. Sie lösten sich ferner in Säuren (Salzsäure, Schwefelsäure, Essigsäure) und in Alkalihydraten (Kalilauge, Ammoniak); beim Verdunsten der ammoniakalischen Lösung traten die Krystalle manchmal wieder auf.

Durch diese Löslichkeitsverhältnisse erscheint die Fähigkeit der Substanz bedingt, sich aus dem Harn krystallinisch abzuscheiden. Die Krystalle traten nur dann auf, wenn der Harn seine saure Reaction beibehielt; wurde er beim Aufbewahren ammoniakalisch, was übrigens nur auffallend selten geschah, so blieben die Krystalle aus. Dass sie sich überhaupt bildeten, wird darauf bezogen, dass neben dem Eiweisskörper relativ wenig Salze im Harn zugegen waren. So wurde einmal der Salzgehalt zu nur 1,475 % bestimmt.

Die Krystalle sind von Murray analysirt worden. 0,965 gr. Substanz hinterliess beim Verbrennen eine unwägbare Menge Asche. Bei 110° verloren die Krystalle 6,01 und 6,6 % an Gewicht. Bei der Verbrennung gaben sie im Mittel zweier gut stimmender Analysen 51,89 % C, 6,88 H, 16,06 N, 1,24 S und 23,93 % O. **Phosphor enthielten sie nicht.**

Die Lösung der Krystalle in Neutralsalzlösung coagulirte, je nach der Art des Salzes bei 56—59°. Sie gaben die Xanthoproteinreaction und die Liebermann'sche Eiweissreaction; beim Erwärmen mit concentrirter Schwefelsäure färbten sie sich roth. Beim Erhitzen entwickelten sie den Geruch nach verbrannten Federn.

6. **Fall von Matthes.** Der Harn enthielt 0,2—0,6 % des Eiweisskörpers, keine Cylinder, vereinzelte Leucocyten, mitunter ein Sediment grosser Kugeln. Er zeigte bei 53° eine feine Trübung, schied etwas später dichte Flocken aus; oberhalb 60° löste sich der Niederschlag und beim Erkalten trat er wieder auf. Salpetersäure gab in der Kälte einen Niederschlag, welcher sich in der Wärme löste. Ein durch Ferrocyankalium und Essigsäure entstehender Niederschlag war in der Wärme ganz oder theilweise löslich. Die Substanz dialysirte nicht einmal spurenweise.

Die Lösung des durch Dialyse von Salzen befreiten Eiweisskörpers gab weder beim Erwärmen noch beim Kochen einen Niederschlag. Zusatz von Salz oder von Säure für sich machte die Lösung nicht coagulabel, wohl aber Zusatz beider Reagentien. Der Coagulationspunkt schwankte je nach dem Gehalt der Lösung an Säure und Salz in weiten Grenzen. Auch beim nativen Harn trat die Coagulation manchmal schon bei 40° ein oder blieb bei Mangel an Salz auch ganz aus. Bei sehr reichlichem Salzzusatz löste sich der Niederschlag nicht vollständig in der Hitze. Das bei 40—60° entstandene Coagulum löste sich in Natriumcarbonat; nach vorsichtigem Ansäuern und Zusatz von etwas Neutralsalz erfolgte in der Wärme wieder Coagulation.

Durch Lauge oder Säure wurde der Eiweisskörper leicht verändert. Essigsäure gab mit dem Harn keinen Niederschlag; versetzte man ihn aber mit einigen Tropfen Lauge, so trat beim Neutralisiren oder schwachem Ansäuern ein reichlicher Niederschlag auf.

Bei der Pepsinverdauung trat schnell Bildung von Pepton und Deuteroalbumose, sowie vollständige Lösung ein, bei 24—48 stündiger Digestion schied sich aber reichlich eine Gallert und Tafeln ab. Die getrocknete Gallert löste sich in absolutem Alkohol und diese Lösung gab die Biuretreaction. Die Gallert enthielt Eisen und gegen 1 % Phosphor, aber kein Lecithin; sie gab ferner die Millon-sche Reaction. Darnach hat sie sich wie ein Nuclein verhalten.

C. *Nachweis.* Die Heteroalbumose des Harns giebt die für Albumose charakteristischen Albumosereactionen (VII. 3. C. 1. S. 478), unterscheidet sich aber von den anderen Albumosen durch ihr Verhalten beim Erhitzen. Der Harn trübt sich in der Wärme anfangs milchig und scheidet weit unter der Siedehitze (bei ungefähr 60°) einen nicht deutlich flockigen, an der Wand des Glases klebenden Niederschlag ab, welcher sich bei saurer Reaction des Harns, in der Kochhitze löst und beim Erkalten wieder auftritt. Dieses Verhalten des Harns ist allein charakteristisch für die Heteroalbumose des Harns. Wird diese Erscheinung nicht beobachtet, so handelt es sich um einen Fall von gewöhnlicher, mit der Peptonurie zusammenfallender Albumosurie.

Beim Erwärmen kann sich auch ein so starker Niederschlag abscheiden, dass das Glas ganz von ihm erfüllt ist, was bei Albuminurie nicht geschieht; doch kann auch nur so wenig von dem Eiweisskörper vorhanden sein, wie in einem gewöhnlichen Fall von Albuminurie.

VIII. Hämoglobin.

A. *Vorkommen.* Hämoglobin kommt im Harn in zweierlei Formen vor, in den Blutkörperchen eingeschlossen oder in freiem Zustande im Harn gelöst.

In den Blutkörperchen eingeschlossen (Hämaturie) erscheint das Hämoglobin im Harn bei Blutungen in den Nieren und den Harnwegen, gelöst dagegen (Hämoglobinurie) bei gewissen Vergiftungen (mit Arsenwasserstoff etc.), nach Verbrennungen, nach der Transfusion des Blutes einer Thierspecies in das Gefässsystem einer anderen Species, bei besonderen Krankheitszuständen (paroxysmale Hämoglobinurie, epidemische Hämoglobinurie der Kinder, schwarze Harnwinde der Pferde) u. s. w.

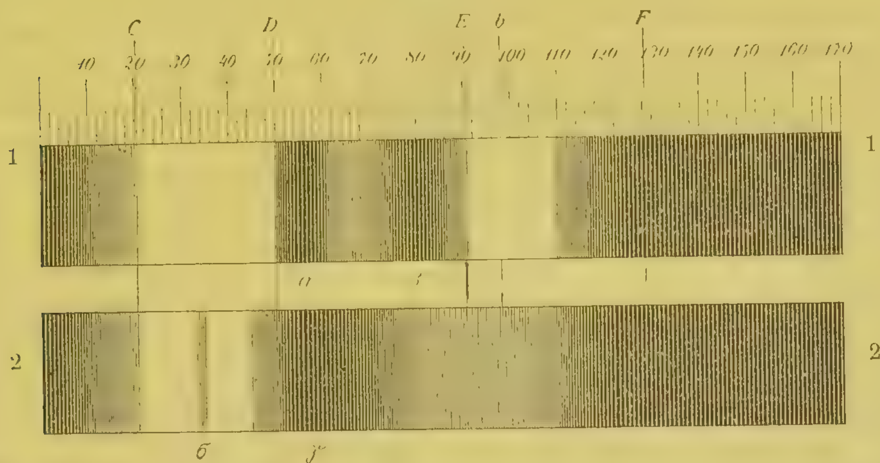
B. *Eigenschaften.* Das Hämoglobin, die Verbindung eines Eiweisskörpers mit Hämatin, besitzt in den wesentlichen Stücken die Eigenschaften des Albumins, welche aber durch die Gegenwart des Hämatins in der Verbindung in chemischer und optischer Hinsicht einen Zuwachs erhalten haben. Es geht mit Sauerstoff eine molekulare Verbindung ein (Sauerstoff-Hämoglobin). Das im Harn vorkommende Hämoglobin ist das sauerstoffhaltige.

1. Beide Hämoglobine, das sauerstofffreie sowie das sauerstoffhaltige sind krystallisationsfähig. Die Krystalle des Sauerstoff-Hämoglobins sind scharlachroth, die des Hämoglobins violettroth, im durchfallenden Lichte grün. Sie lösen sich beide in Wasser und schwachen Salzlösungen. Bei längerem Verweilen des krystallisirten Hämoglobins unter Alkohol

wird es in Wasser unlöslich (Parahämoglobin). Im Vacuum, beim Behandeln mit indifferenten Gasen (Wasserstoff, Stickstoff, Stickoxyd, Kohlensäure), sowie bei der Einwirkung gewisser reducirender Substanzen, wie Schwefelammon, alkalische Ferro- oder Stannotartratlösung (Stokes), Natriumhydrosulphit (Schützenberger), Hydroxylamin und Hydrazin (Curtius, Hüfner) wird dem Sauerstoff-Hämoglobin der Sauerstoff entzogen, ebenso bei der Fäulniss; in Berührung mit atmosphärischem Sauerstoff nimmt das reducirte Hämoglobin sehr leicht wieder Sauerstoff auf. Unter der Einwirkung der verschiedenartigsten Substanzen, welche Dittrich[1]) aufzählt, geht das Hämoglobin in das Methämoglobin über.

2. Concentrirte Lösungen des Sauerstoff-Hämoglobins sind dunkelroth, aber durchsichtig (lackfarben, im Gegensatz zu deckfarben), verdünnte gelblichroth; die Färbung ist auch bei starker Verdünnung

Fig. 7.



1. Spectrum des Sauerstoff-Hämoglobins. 2. Spectrum des sauerstofffreien Hämoglobins.

noch wahrnehmbar. Bei genügender Verdünnung zeigen die Lösungen vor dem Spectralapparat zwei Absorptionsstreifen, einen schmäleren und dunkleren, α, der links an D grenzt und einen breiten und weniger dunklen, β, rechts E um ein Geringes überschreitend. Die Ränder beider Streifen sind, rechts stärker als links verwaschen (Fig. 7, 1).

Lösungen des sauerstofffreien Hämoglobins sind, wie seine Krystalle, in auffallendem Licht violettroth, in durchfallendem grün. Sie zeigen bei etwas stärkerer Concentration, wie die Lösungen des Sauerstoffhämoglobins einen breiten Absorptionsstreifen, γ, zwischen D

[1]) Curtius, Journ. f. prakt. Ch. [2] **39**. 27. 1889. — Hüfner, Du Bois' Archiv 1894. 156. — P. Dittrich, Arch. f. experim. Pathol. **29**. 247. 1891.

und E, der D etwas überschreiten kann, E nicht erreicht, und an der linken Seite stärker verwaschen ist als an der rechten; die dunkelste Stelle desselben nimmt nahezu den Ort ein, an welchem die beiden Streifen des Sauerstoffhämoglobins getrennt sind (Fig. 7, 2). Dieses Spectrum ist schwächer als das des Sauerstoffhämoglobins.

Nach L. Hermann[1]) ist der Streifen kein einfacher, sondern besteht aus einem sehr schmalen linken und einem breiten rechten Streifen, welche durch einen schmalen Zwischenraum getrennt sind.

Der Streifen α des Sauerstoff-Hämoglobins ist in 1 cm dicker Schicht gerade noch sichtbar, wenn die Lösung 0,01 g Hämoglobin in 100 cc enthält, der Streifen β wird erst sichtbar, wenn die Lösung 0,04 g Hämoglobin in 100 cc enthält. Verstärkt man die Concentration der Lösung allmählich, so werden die beiden Streifen des O_2-Hämoglobins immer dunkler, aber auch immer breiter, so dass sie endlich zu einem zusammenfliessen.

Den Streifen γ des sauerstofffreien Hämoglobins erhält man am Einfachsten, wenn man einer Sauerstoff-Hämoglobinlösung, welche ihre Streifen recht kräftig zeigt, Schwefelammon hinzumischt. Der Streifen γ tritt dann nach einiger Zeit auf; zugleich erscheint dann bei genügender Concentration im Roth zwischen C und D noch ein zweiter sehr schmaler und sehr schwacher Streifen (σ), welcher mit dem eigentlichen Spectrum des Hämoglobins Nichts zu thun hat, sondern einer specifischen Wirkung des Schwefelammons auf das Hämoglobin seinen Ursprung verdankt.

Nach den photometrischen Bestimmungen von Vierordt[2]) nimmt die Lichtabsorption im Spectrum des Sauerstoff-Hämoglobins von A—D zu, erreicht bei einer gewissen Verdünnung der Lösung in D—D 19 E, dem Ort des Streifens α, das erste Maximum, nimmt dann von D 19 E bis D 54 E wieder etwas ab, worauf in D 54 E—D 87 E, dem Ort des Streifens β, das zweite Absorptionsmaximum folgt. Dann sinkt die Absorption erheblich und erreicht in E 45 E—E 63 F ein drittes Minimum, steigt darauf wieder und nimmt gegen das violette Ende schnell zu.

Im Spectrum des reducirten Hämoglobins nimmt die Lichtstärke von C 65 D—D sehr schnell ab, die Absorption ist am Stärksten zwischen D 19 E und D 54 E (Streifen γ) etwas geringer zwischen D 54 E und D 87 E; dann steigt die Lichtstärke wieder beträchtlich bis E 45 F, erreicht zwischen diesem Ort und E 63 F ein Maximum der Helligkeit, nimmt dann wieder ab und erreicht ein weiteres Maximum der Helligkeit zwischen F und F 10 G. Dann nimmt die Absorption nach G hin ab.

3. Aus seiner wässrigen Lösung wird das Hämoglobin gefällt durch Schütteln der Lösung mit Natriumcarbonat (Hoppe-Seyler), vollständig durch Sättigen derselben mit Ammonsulphat, unvollständig durch Sättigen mit Magnesiumsulphat; Säure fällt darauf den Rest des Hämoglobins. Nach Kraus[3]) gelingt die Fällung auch durch Zusatz von 4 Vol. mit etwas Baryt versetzter Kaliumacetatlösung oder von 4 Vol. einer mit Kaliumacetat gesättigten Mischung von 1 Vol. Wasser mit 0,25—0,375 Vol. starkem Alkohol auf 1 Vol. Hämoglobinlösung (Blut).

4. Das Hämoglobin wird nicht durch alle Metallsalze gefällt, nicht durch Silbernitrat, die Bleiacetate, Quecksilberchlorid, Eisenchlorid,

1) L. Hermann, Pflüger's Archiv **43**. 235.

2) Vierordt, Die Anwendung des Spectralapparats zur Photometrie etc. Tübingen 1873. 110 und 126. Die quantitative Spectralanalyse etc. Tübingen 1876. 55.

3) Fr. Kraus, Arch. f. exper. Pathol. **26**. 197. 1890.

dagegen wird es niedergeschlagen durch Kupfersulphat, Chlorzink, Zinkacetat im Ueberschuss, durch salpetersaures Quecksilberoxyd und Quecksilberoxydul, Bleiessig und Ammoniak, Eisenchlorid und (wenig) Ammoniak. Bei Gegenwart von Zink fällenden Salzen (Phosphaten, Carbonaten) geht das Hämoglobin leicht in den Zinkniederschlag ein, durch essigsaures Eisenoxyd, sowie durch Bleioxyd kann eine Hämoglobinlösung wie eine Albuminlösung (dieser § I. D. 4. a u. c. S. 442 f.) völlig vom Hämoglobin befreit werden.

Als Salze, welche das Hämoglobin nicht fällen, führt Jutt[1]) an Manganosulphat, Ferrosulphat, Thalliumcarbonat, Kaliumchromat, Natriumwolframiat. Nach C. G. Lehmann giebt das Hämoglobin mit Kaliumdichromat einen reichlichen Niederschlag. Eine mit Bleizucker versetzte Hämoglobinlösung trübt sich nach einiger Zeit, eine mit Bleiessig versetzte Lösung zeigt die Trübung sogleich, vielleicht von beigemengtem Methämoglobin.

5. Phosphorwolframsäure, Gerbsäure, Jodquecksilberkalium, Natriumwolframiat etc. fällen das Hämoglobin in saurer Lösung wie Eiweiss.

6. Erwärmt man eine wässrige Hämoglobinlösung, so tritt in derselben schon unterhalb der Siedetemperatur ein brauner Niederschlag (von coagulirtem Eiweiss und Hämatin) auf. Die Coagulation des Hämoglobins erfolgt unter denselben Bedingungen, wie die des Albumins (dieser § I. B. 6. S. 429), doch scheidet sich das Coagulum in Abwesenheit von Neutralsalz nicht vollkommen ab. Auch wird das Hämoglobin beim Erhitzen in einer mit Ammonsulphat gesättigten Lösung nach Devoto nicht vollständig unlöslich.

7. Alkalihydrate, alkalisch reagirende Salze, sowie Säuren zerlegen das Hämoglobin in Protein und Hämatin.

Wie auf die Globuline wirken auch auf das Hämoglobulin Alkalihydrate oder alkalisch reagirende Salze in verdünnter Lösung mit geringerer Energie zersetzend ein, als verdünnte Säuren. Bei diesen Zersetzungen bleiben die Produkte in Lösung oder erscheinen als Niederschläge, wenn die Verhältnisse derart sind, unter denen eine Albuminlösung bei der Einwirkung der Basen oder Säuren eine Lösung oder einen Niederschlag bilden würde. Concentrirte Mineralsäuren geben z. B. Niederschläge von Acidalbumin; Neutralsalze und Säuren zusammen fällen das Hämoglobin in der Wärme vollständig, wie das Albumin. Lösungen und Niederschläge des zersetzten Hämoglobins unterscheiden sich aber durch ihre Färbung von den analogen (ungefärbten) Produkten des Albumins.

8. Erwärmt man auch nur eine Spur Hämoglobin mit Eisessig und einer Spur Kochsalz, so krystallisirt salzsaures Hämatin (Hämin) in dunkelbraunen rhombischen Täfelchen aus.

Wird eine wässrige Hämoglobinlösung mit einer concentrirten wässrigen Phenollösung erwärmt, so erfolgt nach Kramm[2]) Zerlegung in Hämatin und Eiweiss; das Hämatin findet sich in der (unteren) Phenolschicht.

---

[1]) J. Jutt, Pharm. Post **30**. 185; Chem. Centralbl. 1897. **1**. 1031.
[2]) W. Kramm, Deutsche med. Wochenschr. 3. 1896. 45.

C. *Nachweis.* Für den chemischen Nachweis des Hämoglobins überhaupt ist es gleichgiltig, ob der Harn Blutkörperchen enthält oder nicht; den Nachweis von gelöstem Hämoglobin kann man nur in negativer Weise so führen, dass man sich von der Abwesenheit der Blutkörperchen überzeugt (vergl. Sedimente). Bluthaltiger Harn ist trüb und besitzt eine mehr oder minder ausgesprochene blutrothe Färbung. Die Farbe von Harn, welcher gelöstes Hämoglobin enthält, kann zwischen roth und schwarz schwanken, er kann durchsichtig oder, wegen reichen Gehalts an Farbstoff, undurchsichtig sein.

Für den Nachweis des Hämoglobins als solchen ist nur die spectroskopische Untersuchung (C. 1.) ausschlaggebend: die übrigen Reactionen werden auch vom Methämoglobin erhalten.

1. a. Man giesst eine Probe des Harns — wenn er stark alkalisch war, nach schwachem Ansäuern mit Essigsäure — in ein Glasgefäss (Reagensglas, Becherglas, Glaskästchen mit parallelen Wänden) und bringt dieses vor den weit geöffneten Spalt eines Spectralapparats, in welchen man helles Tageslicht oder das Licht einer stark leuchtenden Gas- oder Petroleumlampe fallen lässt und beobachtet die Gegend von D bis E. Ist das Gesichtsfeld wegen zu starken Hämoglobingehalts der Lösung zu dunkel, so verdünnt man die Flüssigkeit allmählich mit Wasser; ist Hämoglobin vorhanden, so treten endlich die Absorptionsstreifen α und β (B. 2) allmählich mehr oder minder deutlich hervor: enthält der Harn dagegen kein Hämoglobin, so hellt sich das Spectrum in Gelb und Grün immer mehr auf, ohne dass dunkle Streifen sichtbar werden. Enthält der Harn viel andern Farbstoff, so muss er zur Aufhellung des Spectrums stark verdünnt werden und dabei kann die Verdünnung leicht so weit gehen, dass das Hämoglobinspectrum gar nicht gesehen werden kann.

Neben dem Hämoglobinspreetrum oder statt dessen kann der in Roth liegende Streifen des Methämoglobins zugegen sein. — Eine Verwechslung des Hämoglobinspectrums ist möglich mit dem alkalischen und namentlich dem metallischen Spectrum des Hämatoporphyrins (Tafel IV; 5. Spectrum 2 und 4), welche direct am Harn beobachtet worden sind (§ 44. C. 1. B. 7). Vor einer solchen Verwechslung kann man sich schützen durch Ueberführung des Sauerstoff-Hämoglobins in sauerstofffreies mittelst Schwefelammon nach B. 1. oder in Hämochromogen nach C. 1 b.

Der gewöhnliche Spectralapparat lässt sich bei dieser Untersuchung durch solche einfacherer Construction ersetzen, wie deren von Weinhold, sowie von Hering[1]) angegeben worden sind. Dieselben bestehen beide aus einem Prisma welches, in einer das äussere Licht abhaltenden Hülle mit passender Visiröffnung auf ein langes, innen geschwärztes Rohr aufgesetzt ist, an dessen anderem Ende

---

1) Weinhold, Lehrbuch der Experimentalphysik, nach Gänge, Lehrb. der angewandten Optik in d. Chemie. Braunschweig 1886. S. 99. — Hering, Prager med. Wochenschr. 10. 1886; A. Maschek, das. 20. 1886.

sich ein das Licht einlassender Spalt befindet. Das Rohr bewirkt, dass die einfallenden Strahlen nur schwach divergiren und ersetzt den Collimator.

Man hat sich vor einer unvorsichtigen Verdünnung des Harns in Acht zu nehmen, weil man durch einen zu starken Wasserzusatz leicht über die Grenze hinausgelangt, innerhalb welcher die Streifen noch wahrgenommen werden; bei Gegenwart von nur wenig Hämoglobin kann auch blos der Streifen α sichtbar sein. Störende Farbstoffe (Urobilin, Gallenfarbstoff) lassen sich aus dem Harn durch Fällen mit basisch essigsaurem Blei entfernen, wobei das Hämoglobin in Lösung bleibt, aber Methämoglobin gleichfalls niedergeschlagen wird; doch darf man die Fällung nur in von Haus aus klarem oder in filtrirtem Harn vornehmen, weil etwa vorhandene Blutkörperchen mit gefällt werden würden. Umgekehrt kann man die Dicke der vom Licht durchwanderten Schicht vergrössern, wenn die Orte der Absorptionsstreifen keine Verdunkelung aufweisen. Uebrigens lassen sich nach Vierordt[1]) auch dann, wenn nicht die geringste Andeutung von Absorptionsbändern vorhanden ist, Spuren von Sauerstoff-Hämoglobin noch an der sehr merklich stärkeren Absorption zwischen D 7 E und D 15 E, sowie zwischen D 64 E und D 87 E, sowie Spuren von reducirtem Hämoglobin an der Absorption in D 19 E bis D 54 E erkennen.

Trüben Harn hat man vor der Untersuchung zu filtriren. Ist der Filterrückstand roth, so kann er Blutkörperchen enthalten; man stellt dann aus dem Rückstand durch Behandeln desselben mit Wasser eine Lösung her, welche sich zur spectroskopischen Untersuchung noch besser eignet, als der Harn selbst.

b. Ist das Spectrum des Sauerstoff-Hämoglobins schwach oder nicht sichtbar, so empfehlen Lewin und Posner, sowie Linossier[2]) so zu verfahren, dass etwa vorhandenes Hämoglobin in reducirtes Hämatin (Hämochromogen) übergeführt wird, dessen Spectrum stärker ist als das des Hämoglobins.

Man reducirt zunächst das Sauerstoff-Hämoglobin. Linossier schlägt dazu vor, der Probe einen Tropfen der Lösung eines hydroschwefligsauren Salzes zuzusetzen; diese erhält man leicht, wenn man Zink auf saures schwefligsaures Natron einwirken lässt, jedoch nur kurze Zeit, da eine starke Lösung des Salzes das Hämoglobin fällt. Statt des Hydrosulphits kann man sich auch einer Schwefelammonlösung bedienen, die Reduction verläuft dann aber langsamer. Das Spectrum des reducirten Hämoglobins ist schwächer, als das des Sauerstoff-Hämoglobins; es kann also geschehen, dass das vorher noch sichtbare Spectrum verschwindet. Fügt man der Flüssigkeit dann einige Tropfen concentrirte Natronlauge zu, so kommt das Spectrum des Hämochromogens (Taf. III. 3. Spectrum 3) zum Vorschein, in welchem der Streifen α der dunklere ist; dieser liegt zwischen α und β des Spectrums des Sauerstoff-Hämoglobins. Das Spectrum verschwindet beim Erwärmen auf 50° und kehrt beim Erkalten wieder. — Verwendet man statt Schwefelammon und Natronlauge nach einander sogleich eine überschüssiges Alkalihydrat enthaltende Schwefelkalium- oder Schwefelnatriumlösung, so entsteht sogleich Hämochromogen.

2. Man erhitzt den Harn wie zum Nachweis des Albumins (cf. § I. C. 1, S. 432) zum Kochen; bei Gegenwart von Hämoglobin ist das Gerinnsel nicht weiss, sondern mehr oder minder braun, um so weniger aber, je mehr Eiweiss neben dem Blut im Harn enthalten ist.

1) Vierordt, Ztschr. f. Biol. 10. 29. 1874.

2) L. Lewin u. C. Posner, Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1887. 355. — G. Linossier, Bull. de la soc. chim. [2] 49. 691. 1888.

3. Man macht den Harn mit Natronlauge stark alkalisch und kocht auf. Dabei liefert das Hämoglobin Hämatin, welches von den zugleich abgeschiedenen Erdphosphaten aufgenommen wird: der entstehende flockige Niederschlag ist schön blutroth (Heller[1]). Sehr empfindliche Probe.

Die Probe gelingt nach Rosenthal[2]) noch mit Harn, welchem auf das Liter 1 cc Blut zugesetzt ist; bei nur halb soviel Blut ist sie unsicher.

Lässt sich die rothe Färbung des Niederschlags nicht erkennen, weil der Harn, z. B. icterischer, zu dunkel ist, so filtrirt man den Niederschlag ab. Der Niederschlag löst sich in Essigsäure mit rother Farbe und entfärbt sich an der Luft allmählich. — Nach dem Gebrauch von Senna, Santonin, Rheum etc. geht gelber Farbstoff in den Harn über, der durch Alkalien gleichfalls roth wird; der Phosphatniederschlag wird in diesem Falle von Essigsäure mit citronengelber Farbe gelöst und färbt sich an der Luft violett. — Auch andere pathologische Farbstoffe (Hämatoporphyrin) enthaltender, hämoglobinfreier Harn kann nach Filehne einen rothen Niederschlag geben. Der hämatinhaltige Niederschlag zeigt das alkalische Hämatinspectrum und lässt sich so leicht von dem durch Chrysophansäure oder Hämatoporphyrin gefärbten Niederschlag unterscheiden (Garrod[3]).

4. Gleichfalls sehr kleine Mengen Hämoglobin lassen sich nach Struve[4]) im Harn noch nachweisen, wenn man den Harn mit Tannin fällt und mit dem Niederschlag die Häminprobe (B. 8) anstellt.

Struve erhielt Hämin noch aus 20 cc eines Harns mit 0,023 % Blut, Rosenthal dagegen bei solcher Verdünnung nicht mehr, wohl aber noch, wenn dem Harn auf das Liter 0,5 cc Blut zugesetzt war.

Nach Struve soll man den Harn erst mit etwas Ammoniak oder Alkalihydrat, dann mit Tannin versetzen, mit Essigsäure ansäuern, den Niederschlag auf einem Filter sammeln, auswaschen und nach dem Trocknen (in gelinder Wärme) der Häminprobe unterwerfen. Man kann auch den Harn direkt mit Tannin, wenn nöthig unter Essigsäurezusatz, fällen.

Die Häminprobe stellt man in folgender Weise an. Man bringt ein sehr kleines Körnchen des Niederschlags auf einen Objectträger, legt ein Kochsalzkryställchen daneben, bedeckt mit dem Deckglas und füllt den Raum zwischen beiden Gläsern mit Eisessig. Dann erwärmt man das Präparat über einer kleinen Flamme, aber so, dass die Flüssigkeit nicht ins Sieden geräth, indem man zugleich den verdunsteten Eisessig immer wieder ersetzt. Bei Gegenwart von Hämoglobin umgiebt sich das farbige Körnchen zunächst mit einer braunen Lösung und es erscheinen dann in der Nähe des Niederschlags oder in ihm selbst die charakteristischen rhombischen braunen Kryställchen des Hämins. — Struve empfiehlt, die Essigsäure in der Kälte einwirken zu lassen.

5. Rosenthal veraschte den Tanninniederschlag nach dem Auswaschen in einer Platinschale, löste die Asche in einigen Tropfen Salzsäure in der Wärme und prüfte die verdünnte, wenn nöthig vorher durch ein mit Salzsäure gewaschenes schwedisches Filter filtrirte Lösung mit einer Mischung von Ferro- und Ferricyankalium auf Eisen. Nach Zusatz von 0,5 cc Blut zu 1 Ltr. normalem oder eiweisshaltigen Harn wurde selbst noch bei Verwendung von 25 cc Harn deutlich Berlinerblau erhalten, während blutfreier normaler oder eiweisshaltiger Harn eine viel schwächere Eisenreaction gab.

---

1) Heller, Ztschr. d. k. k. Gesellsch. d. Aerzte zu Wien. 48. 1858.
2) C. Rosenthal, Virchow's Archiv 103. 516. 1886.
3) W. Filehne, Virchow's Archiv 117. 417. 1889. — Garrod, Edinburgh med. Journ. Aug. 1897. 115.
4) H. Struve, Ztschr. f. analyt. Ch. 11. 29.

6. Zur Isolirung kleiner Mengen Blut aus Harn hat sich Wolff der schon von Gunning und van Geuns[1]) ausgeführten Fällung des Hämoglobins mit essigsaurem Zink bedient (B. 4).

Zur Bildung des Niederschlags sollen 30—60 cc Harn mit 0,1 Vol. 3proc. Zinkacetatlösung im Wasserbad erwärmt werden. Die ammoniakalische Lösung des Niederschlags benützt Wolff zur spectroskopischen Untersuchung.

7. Sehr empfindlich und leicht ausführbar ist die von Sonnenschein[2]) angegebene Probe durch Fällung des Hämoglobins mit wolframsauren Natron (dieser § I. C. 3. m. S. 438).

Der Harn wird nach reichlichem Zusatz von Essigsäure mit wolframsaurem Natron gefällt, der schmutzig rosenrothe Niederschlag auf einem Filter gesammelt und auf dem Filter in mässig verdünntem Ammoniak gelöst. Die braunrothe Lösung zeigt das Spectrum des alkalischen Methämoglobins (Taf. III. 2. Spectrum 2). Es lassen sich so noch Spuren Blut nachweisen.

IX. Methämoglobin.

A. *Vorkommen.* Das Methämoglobin ist im Blut und Harn angetroffen worden; doch sind nicht alle hierüber gemachten Angaben verlässlich, da der Nachweis öfter auf eine unvollständige spectroskopische Untersuchung gegründet war und deshalb Verwechslungen mit dem Hämatin nicht ausgeschlossen sind. — Nach Hoppe-Seyler[3]) enthält jeder Harn mit gelöstem Blutfarbstoff in frischem Zustand Methämoglobin, das beim Stehen des Harns aber zu Hämoglobin und weiterhin zu Sauerstoff-Hämoglobin wird.

B. *Eigenschaften.* 1. Das Methämoglobin besitzt dieselbe elementare Zusammensetzung wie das Hämoglobin, hält aber den Sauerstoff fester gebunden. Durch schwache Oxydationsmittel (Ferricyankalium etc.), durch die Einwirkung saurer Salze etc. verwandelt sich das Sauerstoffhämoglobin in Methämoglobin (S. 493). Erwärmen des Harns allein auf ungefähr 46° bewirkt nach Lewin und Posner[4]) die Ueberführung des Sauerstoffhämoglobins in Methämoglobin, stärkeres Erwärmen (auf ungefähr 48°) führt zur Bildung von Hämatin. Reductionsmittel (Schwefelammon etc.) verwandeln das Methämoglobin in sauerstofffreies Hämoglobin, das seinerseits wieder Sauerstoff aufnehmen kann. Die Fäulniss bewirkt die gleiche Reduction.

2. Das Methämoglobin krystallisirt in braunen mikroskopischen Nädelchen oder Tafeln; seine Lösungen sind gleichfalls braun.

3. In neutraler Lösung zeigt das Methämoglobin das Spectrum Fig. 8. 1 (siehe Seite 500). Die 4 Streifen entsprechen nach Bertin-Sans den Wellenlängen 633; 580; 538.5; 500; nach Vierordt liegt der Streifen I des Methämoglobinspectrums zwischen C 15 D und C 65 D, der Streifen II zwischen D 8 E und D 30 E und der Streifen III zwischen D 73 E und E 5 F.

Die Streifen II und III besitzen nahezu die Lage von α und β im Spectrum des Sauerstoffhämoglobins, nur ist II blasser als III, im Gegensatz zu den Hämo-

---

1) C. H. Wolff, Pharm. Centralhalle 28. 617. 1887; Chem. Centralbl. 1888. 299. — J. W. Gunning und J. van Geuns, Chem. Centralbl. 1871. 37.

2) F. L. Sonnenschein, Vjhrschr. f. gerichtl. Medic. [2]. 17. Heft 2; Chem. Centralbl. 1873. 424.

3) Hoppe-Seyler, Ztschr. f. physiol. Ch. 5. 6.

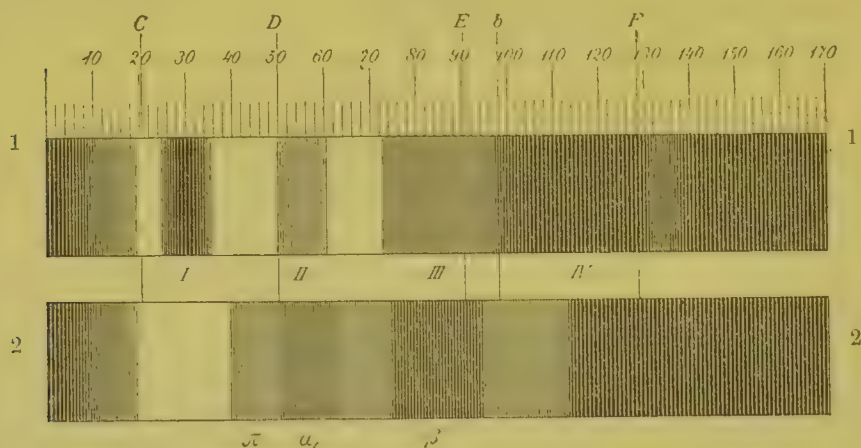
4) L. Lewin und C. Posner, Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1887. 355.

globinstreifen. Nach Araki sowie nach Dittrich[1]) rühren diese zwei Streifen von Hämoglobinresten her, nach Bertin-Sans sind sie dagegen dem Methämoglobin eigenthümlich. Streifen IV ist am Besten bei grosser Verdünnung der Lösung zu sehen. Der Streifen I, der dunkelste und auffälligste, fällt zusammen mit dem Streifen des Hämatins in saurer Lösung (Taf. III. 3. Sp. 1) und dem des Cholecyanins in saurer Lösung (Tafel IV. 6. Sp. 1). Auf Zusatz von Ammoniak nimmt aber das Methämoglobinspectrum das Aussehen von Figur 8. 2. an, und ist dadurch vom alkalischen Spectrum des Hämatins und des Cholecyanins verschieden.

4. Seine übrigen Eigenschaften sind die des Hämoglobins; doch unterscheidet es sich von diesem noch dadurch, dass es durch basisch essigsaures Blei oder in neutraler Lösung durch neutrales essigsaures Blei gefällt wird.

C. *Nachweis.* Der Nachweis des Methämoglobins ist nur durch das Spectroskop sicher zu führen. Doch darf man sich nicht allein durch das Auftreten des Spectrums, welches das Methämoglobin in neutraler Lösung zeigt, zur Annahme

Fig. 8.



1. Spectrum des Methämoglobins in neutraler,
2. in alkalischer Lösung.

bewegen lassen, dass der Farbstoff vorhanden sei, sondern hat, um Verwechslungen namentlich mit Hämatin vorzubeugen, das Spectrum nach B. 3 noch näher zu untersuchen. Die daselbst angegebenen Reactionen lassen sich auch mit Harn recht wohl ausführen.

Beeinträchtigt kann das Spectrum des Methämoglobins werden durch die Gegenwart anderer Farbstoffe, die so wie das Hämoglobin, selbst ein Absorptionsspectrum besitzen, deren Streifen in die Region der Streifen des Methämoglobins (in alkalischer Lösung) fallen, oder die, wie der Gallenfarbstoff oder das Urobilin, das Gesichtsfeld verdunkeln. Der Gallenfarbstoff lässt sich in solchem Falle in der Weise entfernen, dass man den Harn mit Ammoniak schwach alkalisch macht und mit Chlorcalcium ausfällt. Sauerstoffhämoglobin sowie Urobilin lassen sich vor dem Methämoglobin nicht abscheiden; ist die Gegenwart dieser für die Beobachtung störend, so fällt man den Harn, nach Entfernung des Gallenfarbstoffs durch Chlorcalcium, mit basisch essigsaurem Blei, zerlegt den Niederschlag mit kohlensaurem Natron und untersucht die so gewonnene Farbstofflösung spectroskopisch.

---

1) H. Bertin-Sans, Comptes rendus **106**. 1243. 1888. — Vierordt, Die quantitative Spectralanalyse etc. Tübingen. 1876. 60. — T. Araki, Ztschr. f. physiol. Chem. **14**. 405. 1890. — P. Dittrich, Archiv f. exper. Pathol. **29**. 247. 1891.

§ 44. Die Farbstoffe.

An präformirten Farbstoffen kommen im frischen Harn stets vor das Urochrom und das Hämatoporphyrin, häufig das Uroerythrin, auch das Urobilin in gestandenem Harn. Das Urochrom ertheilt dem Harn die gelbe Grundfarbe, das Hämatoporphyrin und das Uroerythrin sind roth, das Urobilin ist braun. Gelegentlich treten auf unter pathologischen Verhältnissen, abgesehen vom Hämoglobin und Methämoglobin, das Hämatin, das Urorubrohämatin und Urofuscohämatin, die Gallenfarbstoffe und das Melanin; ferner gewisse aus Medicamenten (Chrysophansäure, Santonin etc.) oder Nahrungsmitteln (Kirschen, Heidelbeeren etc.) stammende Farbstoffe.

Im Harn sind ferner Substanzen enthalten, welche bei der Einwirkung von Reagentien farbige Zersetzungsprodukte liefern (Chromogene). Aus der Indoxylschwefelsäure und Indoxylglykuronsäure entstehen das Indigblau und das Indigroth; andere rothe Farbstoffe gehen hervor aus der Skatoxylschwefelsäure, der Skatoxylglykuronsäure und der Skatolcarbonsäure. Ein rothes Chromogenderivat eigner Art ist das Urorosein. Das leicht zersetzliche Urobilinogen ist die Muttersubstanz des Urobilins. Gewisse braune und schwarze Farbstoffe entstehen bei der Einwirkung von Säuren auf den Harn aus dem Urochrom, und andere, den Huminsubstanzen zuzuzählende, wie es scheint, aus den Kohlenhydraten desselben.

Die sich durch die Einwirkung von Säure auf Zucker bildenden schwarzen Huminsubstanzen von wechselnder Zusammensetzung (das in Alkalien unlösliche Humin und die in Alkalien lösliche Huminsäure, beide in Wasser und in Alkohol unlöslich) liefern nach F. Hoppe-Seyler beim Erhitzen mit Kaliumhydrat auf 240—250° Oxalsäure, Ameisensäure, Essigsäure, zuweilen kohlenstoffreichere Fettsäuren, Protokatechusäure (Brenzkatechin-Carbonsäure), Brenzkatechin und Hymatomelansäure, eine gleichfalls dunkelgefärbte, der Huminsäure ähnliche, aber in Alkohol lösliche Substanz. Wird die Zersetzung des Zuckers bei Gegenwart von Harnstoff vorgenommen, so entsteht nach v. Udránszky stickstoffhaltige Huminsubstanz, welche beim Schmelzen mit Kaliumhydrat dieselben Zersetzungsprodukte, wie die stickstofffreien Huminkörper, auch einen der Hymatomelansäure entsprechenden Rest, ausserdem aber Ammoniak giebt. Dieselben Huminsubstanzen liefert nach v. Udránszky der Harn beim Kochen mit Salzsäure. Da nun jeder Harn Kohlenhydrate enthält, so scheint es kaum einem Zweifel zu unterliegen, dass die Huminkörper aus diesen hervorgehen; auch die Glykuronsäure liefert nach F. Hoppe-Seyler Huminkörper. Als einen, wenn auch nicht sehr kräftigen Beweis für die Abkunft der Huminsubstanzen des Harns aus seinen Kohlenhydraten führt v. Udránszky an, dass die Ausbeute an dem Produkt aus Harn in einem ziemlich constanten Verhältniss zu seiner Reductionsfähigkeit steht; Levulinsäure konnte jedoch v. Udránszky aus 10 Ltr. mit Salzsäure gekochtem Harn nicht gewinnen. Bedeutsam ist aber, wegen der Bildung von Furfurol aus Kohlenhydraten durch Säuren der Umstand, dass die schwarze Substanz, welche bei der Einwirkung von Furfurol auf Harnstoff entsteht (§ 32. B. 7. a. S. 296), nach Schiff[1]) gleichfalls stickstoffhaltig ist.

[1]) F. Hoppe-Seyler, Ztschr. f. physiol. Ch. **13**. 66. 1889. — L. v. Udránszky, Ztschr. f. physiol. Ch. **12**. 42. — Derselbe, a. a. O. **11**. 537. 1887; **12**. 33. 1888. — F. Hoppe-Seyler, a. a. O. 96. — H. Schiff, Berichte d. chem. Gesellsch. **10**. 773. 1877.

Das thierische Gummi (S. 143) wird durch Bleiessig und Ammoniak gefällt; ein solcher Niederschlag aus Harn wird also bei der Behandlung mit Säuren Huminsubstanzen liefern können. Aber auch durch andere Bleisalze erzeugte Niederschläge können das thierische Gummi, als Colloidsubstanz, mit niederreissen. Den Bleiacetatniederschlag aus Harn von Gesunden und Kranken fand Mörner[1]) reich an solchem „Chromogen". Es ist ferner zu berücksichtigen, dass auch die gepaarten Glykuronsäuren durch Bleisalze gefällt werden (S. 198) und dass die Glykuronsäure bei der Behandlung mit Säuren gleichfalls Huminsubstanzen bildet. Endlich ist zu erwägen, dass auch die Harnfarbstoffe durch Bleiacetat niedergeschlagen werden, und dass bei der Zerlegung dieser braune Substanzen auftreten müssen, aus dem Urochrom durch Zersetzung desselben. In dieser Hinsicht ist von Bedeutung, dass sich nach Plósz (A. I. 4. a.), sowie nach Giacosa (VII. 2.) das Chromogen der schwarzen Farbstoffe dem Harn (völlig) durch Amylalkohol entziehen lässt.

Erschwert wird die Untersuchung der Harnfarbstoffe noch dadurch, dass eine Veränderung der präformirten Farbstoffe während ihrer Darstellung nicht ausgeschlossen ist und ferner dadurch, dass auch die angewandten Reagentien selbst zur Quelle dem Harn fremder Farbstoffe werden können; der häufig als Extractionsmittel verwendete Amylalkohol kann bei der Einwirkung von Säuren urobilin- und uromelaninähnliche Körper liefern.

Das Harnspectrum. Der normale Harn weist keine Absorptionsbänder auf; aber er absorbirt das Licht in verschiedenen Regionen des Spectrums mit ungleicher Stärke. Vierordt[2]) hat bei sechs normalen (pigmentreichen Nacht-)Harnen den Exstinctionscoëfficienten bestimmt und folgende Werthe gefunden:

Spectralregion	Exstinctionscoefficienten absolut	relativ	Maximale Abweichung
C 15 D — C 65 D	0,0515	1	1,84
D 87 E — E 8 F	0,0819	1,59	2,14
E 8 F — E 26 F	0,0966	1,88	2,15
E 26 F — E 45 F	0,1062	2,06	1,93
E 45 F — E 63 F	0,1159	2,25	1,83
E 63 F — E 80 F	0,1259	2,44	1,71
E 80 F — F	0,1379	2,68	1,57
F — F 21 G	0,1768	3,37	1,40
F 21 G — F 44 G	0,1995	3,87	1,47
F 44 G — F 65 G	0,2325	4,51	1,49
F 65 G — F 87 G	0,2818	5,47	1,68
F 87 G — G 10 H	0,3298	6,40	1,68

Nach diesen Messungen wächst die vom Harn bewirkte Lichtabsorption in der Richtung von Roth gegen Violett. Es verhalten sich

1) K. A. H. Mörner, Ztschr. f. physiol. Ch. 11. 133. 1887.
2) Vierordt, die quantitative Spectralanalyse etc. Tübingen 1876. 78.

aber nicht alle Harne in dieser Hinsicht gleich, die Absorption nimmt nicht in allen Harnen gleichmässig zu, sondern es kommen sehr erhebliche Schwankungen vor, wie aus den Zahlen der Tabelle für die maximale Abweichung ersichtlich ist; diese geben an, wieviel mal grösser der Extinctionscoëfficient des am Stärksten absorbirenden Harns ist, als der des am Schwächsten absorbirenden, in derselben Spectralregion. Dieses Anwachsen der Absorption nach dem blauen Ende und die maximalen Abweichungen erklären sich in einfacher Weise aus dem spectralen Verhalten der einzelnen im Harn vorkommenden Farbstoffe. Das Urochrom absorbirt das Licht in zunehmender Stärke vom rothen zum violetten Ende des Spectrums, wie der Harn selbst. In das Roth fällt der Absorptionsstreifen α des alkalischen Hämatoporphyrins, in die Gegend D 87 E — E 8 F der Streifen γ des alkalischen und β des metallischen Hämatoporphyrins, welche beide im Harn vorkommen können, ferner α des Uroerythrins, und auf das blaue Ende des Spectrums fallen die breiten und dunklen Streifen von δ des alkalischen Hämatoporphyrins, β des Uroerythrins und der des Urobilins.

In pathologischem (sehr farbstoffreichen) Harn sind Streifen des Hämatoporphyrins, des Uroerythrins und der des Urobilins direkt wahrgenommen worden.

Aehnliche Bestimmungen hat Mörner[1]) mit eingedampftem Menschenharn, Vierordt weiter mit Harn vom Meerschweinchen, Kaninchen und Hund, ferner mit Harnen von fiebernden und fieberfreien Kranken ausgeführt. Die Harne der Kranken absorbirten das Licht $1\frac{1}{2}$—9 mal so stark als stark pigmentirter normaler Harn und die Stärke der Lichtabsorption war in den einzelnen Spectralregionen der des normalen Harns nicht proportional.

Der Farbstoff des Harns lässt sich durch die Bleiacetate, sowie durch Phosphorwolframsäure und Phosphormolybdänsäure fällen, aber nicht vollständig. Aus Menschen- und aus Hundeharn schlägt Bleizucker nach Vierordt[2]) den gelben, das Blau und Blaugrün besonders absorbirenden Bestandtheil (Urochrom, Urobilin, Hämatoporphyrin, Uroerythrin) stärker nieder als andere. Bleiessig verhält sich ähnlich, wirkt aber in dieser Hinsicht schwächer.

Aus dem Bleiacetat-Niederschlag des Harns Gesunder und Kranker gewann Mörner[3]) Farbstoffe, welche Schwefel (einmal 5 %) enthielten und bisweilen auch eisenhaltig waren. Barytwasser fällte nur wenig Farbstoff, von andrer Beschaffenheit als das Phymatorhusin (A. III. 6.).

Manche Harne werden beim Stehen an der Luft dunkler, die normalen, weil sich bei ihnen Urobilin aus dem Urobilinogen bildet, die melanotischen wegen der Entstehung von Melanin aus dem Melanogen durch Oxydation und die Carbolharne aus ähnlicher Ursache.

1) K. A. H. Mörner, Ztschr. f. physiol. Ch. **11**. 127. 1887.
2) Vierordt, a. a. O. 93.
3) K. A. H. Mörner, a. a. O. 133. 139.

A. Die gelben, braunen und schwarzen Farbstoffe.

I. Urochrom.

A. *Vorkommen.* Das Urochrom ist der typische Farbstoff des normalen und pathologischen Harns. Es macht die Hauptmenge der Harnfarbstoffe aus und ertheilt dem Harn die gelbe und orange bis braune Färbung. Die Uratsedimente enthalten nach Garrod[1]) immer etwas davon, allein oder neben Uroerythrin und anderen Farbstoffen.

Die älteren Forscher, welche sich um seine Darstellung bemüht haben, Scherer, Schunck, Thudichum u. A. erhielten es zum Theil zersetzt und mehr oder minder verunreinigt mit andren, auch farbigen Substanzen. Von ihnen kam Thudichum dem Ziele noch am Nächsten. Nachdem aber das chemische Verhalten der übrigen im Harn auftretenden Farbstoffe und Chromogene besser bekannt worden war, ist es Garrod durch die zweckmässige Wahl seines Darstellungsverfahrens gelungen, die Missgriffe seiner Vorgänger zu vermeiden und den Farbstoff so rein zu gewinnen, dass seine chemische Individualität in der Hauptsache gesichert erscheint.

Um einen Vergleich zu ermöglichen und der historischen Beziehungen wegen berichte ich noch kurz über einen Theil der früheren Untersuchungen.

Die schwarzen Farbstoffe, welche man in verschiedener Weise aus dem Harn dargestellt hat, sind zum Theil wenigstens Zersetzungsprodukte des Urochroms.

1. Das Urochrom nach Garrod[2]).

Für die Identität des von Garrod dargestellten Farbstoffs mit dem im Harn vorkommenden sprechen folgende Umstände. Lösungen des Urochroms besitzen je nach ihrer Concentration die Farbe des normalen Harns in allen ihren Tönen von gelb durch orange bis braun. Der Farbstoff selbst weist, wie der Harn selbst, vor dem Spectroskop keine Absorptionsstreifen auf. Entsprechend seiner Unlöslichkeit in Aether wird durch Aether dem Harn kein Farbstoff entzogen. Die Harnsäure scheidet sich aus Lösungen des Harnfarbstoffs nach Farbe und Form so aus, wie aus dem Harn.

Für seine verwandtschaftlichen Beziehungen zu anderen Farbstoffen ist die von Riva mitgetheilte Thatsache wichtig, dass Urobilin bei vorsichtiger Oxydation mit Permanganat einen dem Urochrom sehr ähnlichen Farbstoff liefert (dieser § A. II. B. 5.).

B. *Eigenschaften.* 1. Nach den Ermittelungen von Garrod ist das Urochrom stickstoffhaltig, aber eisenfrei und ist, da es eine deutliche Xanthoproteinreaction giebt, den aromatischen Verbindungen zuzuzählen. Es verhält sich wie eine Säure, seine Lösungen reagiren aber auf Lackmus amphoter. Auf dem Platinblech verbrennt der Farbstoff unter Abscheidung von viel Kohle.

---

[1]) Archibald E. Garrod, Journ. of Physiol. 17. 441. 1895; Journ. of Pathol. and Bacteriol. 3. 103. 1896.

[2]) A. E. Garrod, Proceed. of the Roy. Soc. 55. 394. 1894.

2. In trocknem Zustand ist das Urochrom amorph und braun, ausserordentlich hygroskopisch, nach dem Verweilen über Schwefelsäure aber hart. In der Kälte ist es so gut wie geruchlos, auf dem Wasserbade aber erweicht es und riecht dann schwach urinös.

3. Es löst sich in Wasser sehr leicht, leicht auch in rectificirtem Weingeist, viel weniger leicht aber in absolutem Alkohol; beim Abdampfen seiner alkoholischen Lösung büsst es etwas von seiner Löslichkeit in Alkohol ein. Essigäther, Amylalkohol sowie Aceton lösen es nur spärlich. In Aether, Chloroform, sowie Benzol ist es ganz unlöslich, Mischungen von Aether oder Chloroform mit Alkohol lösen es aber einigermaassen.

4. Seine Lösungen zeigen, auch nach Zusatz einer Säure, nur eine diffuse Absorption des Spectrums von der violetten Seite her; Zusatz von Chlorzink und Ammoniak ruft keine Fluorescenz hervor.

5. Gegen Metallsalze verhält sich der Farbstoff ganz so wie das Urochrom von Thudichum. Die Lösung wird fast vollständig entfärbt durch die Bleiacetate, Silbernitrat und essigsaures Quecksilberoxyd; dem gelben Quecksilberniederschlag kann der Farbstoff zwar durch salzsäurehaltigen Alkohol entzogen werden, aber mit brauner Farbe, also nicht mehr unverändert. Essigsaures Quecksilberoxydul giebt keinen Niederschlag. Phosphorwolfram- und Phosphormolybdänsäure fällen den Farbstoff gleichfalls.

6. Das Urochrom erleidet sehr leicht Zersetzungen.

Die alkoholische Lösung des Farbstoffs hält sich lange Zeit unverändert, die wässrige Lösung dagegen wird braun, auch in verschlossener Flasche, schneller in der Wärme oder beim Abdampfen. Durch einen Zusatz von etwas Ammoniak kann diese Zersetzung hintangehalten werden. Alkalien ändern die Farbe der verdünnten Lösung nicht, concentrirte werden aber etwas brauner. Geringe Mengen einer Mineralsäure ändern die Farbe der Lösung nicht sofort, grössere aber färben röthlich braun. Zink und Salzsäure entfärben die Lösung, wie den Harn selbst; Zusatz von Wasserstoffsuperoxyd ruft die Färbung nicht wieder hervor. Beim Erwärmen mit Salzsäure oder Schwefelsäure auf dem Wasserbad wird die Lösung des Farbstoffs, auch wenn sie frei ist von Indoxylschwefelsäure, braun und hinterlässt beim Verdunsten einen fast schwarzen Rückstand, Wasser löst einen Theil desselben; diese Lösung ist orangefarben ähnlich einer Lösung des unveränderten Farbstoffes, nur etwas dunkler und der in Lösung befindliche Körper löst sich nach dem Verdunsten kaum in Alkohol, ertheilt aber Chloroform eine gelbe Farbe. Dem ursprünglichen, mit Wasser behandelten schwarzen Rückstand entzieht Alkohol mehr Farbstoff mit Sepiafarbe; die Lösung weist aber keine Absorptionsstreifen auf. Die heisse alkoholische Lösung setzt beim Erkalten einen dunklen pulvrigen amorphen Niederschlag ab. Der übrige, in Wasser und in Alkohol unlösliche Rest des Rückstandes löst sich nicht in verdünnten Säuren, kaum in Amylalkohol, aber leicht in starkem Ammoniak, verhält sich also wie das Uromelanin von Thudichum. Auch diese Lösung bot keine Absorptionsstreifen dar.

7. Bei der Behandlung von reinem Urochrom mit reinem Aldehyd erhielt Garrod[1]) einen dem Urobilin ähnlichen Farbstoff.

---

1) A. E. Garrod, Journ. of Physiol. 21. 190. 1897.

Das verwendete Urochrom war so rein als möglich, zeigte kein Absorptionsband und war völlig frei von dem Chromogen des Urobilins. Die Bildung des Urobilins erfolgte mit der neutralen alkoholischen, aber nicht der wässrigen Lösung des Urochroms oder dem Harne selbst, schon in Zimmertemperatur, schneller in der Wärme. Das entstandene Urobilin zeigte ein dem des Urobilins vollständig gleiches Absorptionsband und auf Zusatz von Chlorzink und Ammoniak trat eine schön grüne Fluorescenz und der Streifen des Urobilinzinks auf. Von dem natürlichen Urobilin aus Harn unterschied sich der Farbstoff aber in ähnlicher Weise wie das künstliche aus Bilirubin und Hämatin dargestellte. Auch das von Riva aus natürlichem Urobilin gewonnene Urochrom gab bei der Behandlung mit Aldehyd ein Urobilin, welches mit dem natürlichen ähnliche Unterschiede darbot wie jene. Das nach Kramm dargestellte Urochrom verhielt sich wie das von Garrod.

8. Fällt Harnsäure aus einer mit Urochrom versetzten Lösung aus, so besitzen die Krystalle die gelbe bis braune Farbe und die Wetzsteinform, wie die aus Harn spontan auskrystallisirte Harnsäure; wird die Harnsäure aus der Lösung durch Zusatz einer Säure abgeschieden, so ist sie so braun gefärbt wie die aus Harn durch Säuren gefällte Harnsäure.

C. *Darstellung.* a. Nach Garrod. Das Verfahren beruht darauf, dass dem mit Ammonsulphat gesättigten Harn das Urochrom durch absoluten Alkohol entzogen wird; es ist mit grossen Verlusten verbunden.

Es werden 0,5—1 Ltr. concentrirter normaler Harn in gelinder Wärme mit Ammonsulphat gesättigt. Das Filtrat ist rein goldgelb, aber etwas blasser als der verwendete Harn. Der Niederschlag enthält das Urobilin, das Hämatoporphyrin, das Uroerythrin und etwas Urochrom. Auch von einem urobilinreichen pathologischen Harn erhält man ein Filtrat von ebenso rein gelber Farbe wie aus normalem, ohne den Urobilinstreifen; dagegen enthält das Filtrat Spuren Hämatoporphyrin und ausserdem Indoxylschwefelsäure.

Das Filtrat wird mit absolutem Alkohol versetzt. Es fällt Ammonsulphat aus und wenn man nicht viel Alkohol genommen hat, so sammelt sich auf der Salzlösung eine klare gelbe Schicht Alkohol an, welche die Hauptmenge des gelben Farbstoffes enthält. Garrod macht über die Menge des Alkohols, die man zu verwenden hat, keine näheren Angaben; ich halte 2—3 Vol. absoluten Alkohol auf 10 Vol. salzgesättigten Harn für das günstigste Verhältniss. Die geringen Mengen Farbstoff, welche in der Salzlösung zurückbleiben, lassen sich ihr zwar durch nochmalige Behandlung mit Alkohol entziehen, die Ausbeute ist aber so gering, dass sie den Verbrauch von Alkohol nicht lohnt. Verwendet man statt absoluten Alkohols rectificirten Weingeist, so braucht man eine beträchtlich grössere Menge.

Den alkoholischen Auszug giesst man in viel Wasser und sättigt abermals in gelinder Wärme, mit Ammonsulphat, worauf sich die alkoholische Farbstofflösung wieder abscheidet. Man verliert dabei etwas Urochrom, entfernt aber dafür Harnstoff und andere Beimengungen in vortheilhafter Weise. Die orangegoldgelbe alkoholische Lösung mischt sich nicht mit Chloroform, weil sie noch Wasser und Ammonsulphat enthält. Um diese zu beseitigen, giesst man die Lösung auf festes Ammonsulphat und erwärmt schwach; es bilden sich 2 Schichten von denen die untere das meiste des vorher in Lösung gewesenen Ammonsulphats aufgenommen hat. Die aufschwimmende Lösung wird dann auf dem Wasserbad zur Trockne verdunstet, wobei man sie aber durch zeitweiligen Zusatz von Ammoniak alkalisch zu halten hat, um die Zersetzung der noch beigemengten Indoxylschwefelsäure zu verhindern. Der braune, in der Wärme halbflüssige, in der Kälte erstarrende, stark urinös riechende Rückstand enthält noch etwas Ammonsulphat und Indoxylschwefelsäure. Er wird ein oder zweimal mit Essigäther ge-

waschen, welcher die Indoxylschwefelsäure, aber nur wenig gelben Farbstoff wegnimmt. Man lässt dann den Rückstand einige Stunden in verschlossener Flasche unter absolutem Alkohol stehen und erhält so eine schön gelbe Lösung; ein weiterer Antheil des Farbstoffs kann dem Rückstand durch eine zweite Extraction mit absolutem Alkohol entzogen werden. Durch das Verweilen unter Alkohol scheint das Urochrom theilweise an Löslichkeit in Alkohol eingebüsst zu haben; löst man jedoch diesen Rest des Rückstands in Wasser und wiederholt die Darstellung des Farbstoffs wie mit dem Harn, so erhält man jetzt eine von Indoxylschwefelsäure freie Lösung.

Der zuerst erhaltene alkoholische Auszug scheidet auf Zusatz von Salzsäure und einer Spur Chlorkalk noch Indigo ab. Er wird so weit concentrirt bis seine Farbe reich orange geworden, dann in etwas mehr als sein Volumen Aether gegossen und der dabei amorph ausfallende Farbstoff auf einem mit Aether befeuchteten Filter gesammelt. Ein Theil des Farbstoffes bleibt im Filtrat gelöst. Enthält die eingedampfte Lösung Wasser, so fällt der Farbstoff auf Zusatz von Wasser nicht in fester Form aus, sondern es scheiden sich einige Tropfen sehr concentrirter Farbstofflösung ab, die mit durch das Filter gehen. Zur weiteren Reinigung wird das trocken gewordene Filter mit dem an ihm haftenden Farbstoff zunächst einige Zeit in Chloroform eingeweicht, das dabei farblos bleibt, dann in absolutem Alkohol, welcher Farbstoff aufnimmt, aber nicht so leicht als vorhin. Lässt man das Filter dann einige Stunden in Wasser liegen, so erhält man eine orangefarbene oder gelbe Lösung, die keine Indigoreaction mehr geben darf. Die Lösung zeigt keinen Spectralstreifen, ist also frei von solchen Farbstoffen. Aber es ist möglich, dass sie noch etwas Harnstoff enthält, wie man daran erkennt, dass sie auf Zusatz von Bromlauge eine geringe Menge Stickstoff entwickelt, umso weniger aber, je gründlicher das Filter mit dem gefällten Farbstoff mit Aether gewaschen wurde. Beim Verbrennen hinterliess der Farbstoff noch eine Spur in Wasser leicht lösliche weisse Asche, welche keine Kohlensäure enthielt und anscheinend nur aus Natriumphosphat bestand.

b. Nach Kramm[1]). α. Schüttelt man 4—5 Vol. Harn mit 1 Vol. 90 proc. Phenollösung (Acid. carbol. liquefactum), so erscheint, wenn nach 12—24 Std. Scheidung eingetreten ist, der (aufschwimmende) Harn nur in dicker Schicht schwach hellgelb, das Phenol braun. Der Rest im Harn noch enthaltener Farbstoffe kann zugleich mit dem gelöst gebliebenen Phenol durch Sättigen des Harns mit Kochsalz oder Natriumsulphat, am Vollkommensten mit Ammonsulphat entzogen werden; das ausgesalzene Phenol ist dunkelbraun. Versetzt man das Phenol mit dem gleichen Volumen Aether (oder Essigäther, Chloroform, Benzol, Amylalkohol) und schüttelt mit Wasser, so wird die (obere) ätherische Phenollösung mattrosa bis rubinroth (von Urobilin und Hämatoporphyrin), die wässrige (untere) Schicht gelb; diese zeigt die diffuse von grün bis violett reichende Absorption einer Urochromlösung und enthält neben dem Urochrom noch viel andere organische und anorganische Substanzen, von denen sie nicht befreit werden konnte.

β. Man schüttelt Harn mit guter Thierkohle, wäscht sie chlorfrei, trocknet sie im Vacuum und erschöpft sie mit einer gesättigten alkoholischen Phenollösung, welche das Urobilin aufnimmt. Die Kohle wird darauf mit einer gesättigten Lösung von Phenol in Chloroform behandelt, das Chloroform im Vacuum verdunstet und aus dem rückständigen Phenol das Urochrom durch Alkohol oder Aether gefällt.

D. *Nachweis.* Eigenthümlich für das Urochrom ist seine Unfällbarkeit beim Sättigen seiner Lösung mit Ammonsulphat, seine Farbe und sein Spectrum und die leichte Zersetzung desselben durch Säuren in braune oder schwarze Substanzen. Die Unlöslichkeit in Aether hat

---

1) W. Kramm, Deutsche med. Wochenschr. 2 u. 3. 1896. 25 u. 42.

es unter den Harnfarbstoffen mit dem Uroroseïn gemein, die Fällbarkeit durch Phosphorwolframsäure (oder Phosphormolybdänsäure), Bleiacetat mit anderen Harnfarbstoffen.

2. Das Urochrom nach Thudichum.

Thudichum[1]) erhielt sein Urochrom nach verschiedenen Methoden, von welchen hier nur eine wiedergegeben wird, in Betreff der übrigen aber auf das Original verwiesen werden muss.

Zur Darstellung des Urochroms hat Thudichum den Harn zunächst mit Baryumhydrat und essigsaurem Baryt ausgefällt, wodurch wenigstens das Hämatoporphyrin entfernt wird. Nach 24 Stunden wird der Niederschlag abfiltrirt und das Filtrat mit Bleizucker und Ammoniak ausgefällt; dabei werden Urobilin und Indoxylschwefelsäure mit niedergeschlagen. Den ausgewaschenen Bleiniederschlag zerreibt man in einer Porzellanschale mit verdünnter Schwefelsäure, sättigt im Filtrat die überschüssige Säure mit kohlensaurem Baryt ohne Anwendung von Wärme, macht das Filtrat mit Barytwasser alkalisch und behandelt mit Kohlensäure. Bei der Behandlung des Bleiniederschlags mit Schwefelsäure kann bereits eine Zersetzung des Urochroms eintreten. Garrod[2]) zog einen solchen Bleiniederschlag mit verdünnter kalter Schwefelsäure aus und neutralisirte sofort mit Ammoniak; der so gewonnene Farbstoff war einigermaassen löslich in Aether und in Chloroform, während sich der unzersetzte Farbstoff in diesen Flüssigkeiten nicht löst.

Nach Thudichum wird dann weiter das Filtrat der mit Baryt von der Schwefelsäure befreiten Flüssigkeit jetzt mit einer Lösung von essigsaurem Quecksilberoxyd ausgefällt und der entstandene Niederschlag mit kaltem und heissem Wasser ausgewaschen. Die so erhaltene Quecksilberverbindung muss eine gelbe Farbe haben, ist sie grau oder dunkel gefärbt, so muss nach dem Zersetzen mit Schwefelwasserstoff die Behandlung mit Bleizucker etc. wiederholt werden. Aus dem möglichst reinen Urochrom-Quecksilberoxyd wird durch Schwefelwasserstoff der Farbstoff als gelbe Lösung gewonnen. Immer enthält diese Lösung noch etwas Salz- oder Essigsäure. Die Salzsäure kann man durch Schütteln mit frisch gefälltem Silberoxyd entfernen, wobei aber ein Theil des Urochroms sich mit dem Silber zu einem voluminösen Niederschlag verbindet, während die Flüssigkeit viel essigsaures Silberoxyd in Lösung enthält. Die gelbe alkalische Lösung wird endlich durch Schwefelwasserstoff vom Silber befreit, worauf das Filtrat nach dem Verdunsten auf dem Wasserbade das Urochrom als amorphe, feste, gelbe Substanz zurücklässt.

Das so erhaltene Urochrom bildet gelbe Krusten, die sich zum Theil in Wasser mit rein gelber Farbe lösen. Seine wässrige schwefelsaure, sowie die alkoholische Lösung zeigen nach Thudichum[3]) einen schwachen schmalen Absorptionsstreifen zwischen F und G, der mit seinem linken Rande an F grenzt, dagegen keinen Streifen in der neutralen oder alkalischen Lösung, während das Urochrom von Garrod keinen Absorptionsstreifen aufweist. In Alkohol ist es schwer löslich, leichter in Aether, sehr verdünnten Mineralsäuren und Alkalien. Durch die Löslichkeit in Aether unterscheidet sich dieses Urochrom scharf von dem von Garrod dargestellten. Aus seinen alkalischen Lösungen wird es durch Säure nicht gefällt. Die wässrige Lösung wird mit der Zeit dunkler, schliesslich roth, trübt sich und setzt harzige Flocken ab. Erwärmen begünstigt die Zersetzung namentlich bei Gegenwart von Säuren. Zucker wird dabei nicht gebildet. Aus der wässrigen Lösung wird das Urochrom durch Silbernitrat als gelatinöse, in Salpetersäure lösliche Masse gefällt; Bleizucker giebt einen weissen flockigen Niederschlag.

---

1) Thudichum, Brit. med. Journal 1864. **2**. 509. November 5. 1864; Schmidt's Jahrbücher **125**. 154; Journal f. pr. Ch. **104**. 257.

2) Garrod, Journ. of Physiol. **17**. 406.

3) Thudichum, Journal of the chem. Soc. [2] **13**. 397 u. 401. 1875.

Bleiessig und essigsaures Quecksilberoxyd fällen gelblich. Salpetersaures Quecksilberoxyd giebt einen weissen Niederschlag, der beim Kochen fleischfarben wird, während die überstehende Flüssigkeit sich rosenroth färbt.

Durch Oxydation an der Luft wird das Urochrom zunächst roth. Unter dem Einfluss von Säuren liefert die gelbe lösliche, sowie die rothe Substanz drei unlösliche, die sich bei hinlänglich langem Kochen einer sauren Urochromlösung nach Zusatz von Wasser in braunen, sich zusammen ballenden Klumpen absetzen. Beim Behandeln dieses Bodensatzes mit Alkohol bleibt ein braunes, in Aetzkali lösliches und daraus durch Essigsäure fällbares Pulver, das Uromelanin zurück. Die prächtig rubinroth gefärbte alkoholische Lösung liefert durch Fällen mit Wasser ein rothes Harz, welches durch Aether in zwei Körper zerlegt werden kann. Die ätherische Lösung hat eine sehr schöne rothe Farbe und enthält eine harzige Säure, die Omicholsäure. In Aether unlöslich bleibt eine gelbe Substanz zurück, das Uropittin, welches aus absolutem Alkohol krystallisirt erhalten wurde. Von diesen Zersetzungsprodukten zeigt das Uropittin (in alkoholischer Lösung) einen schwachen Streifen zwischen E und F, der etwas mehr nach Violett zu liegt, als der Urobilinstreifen und die ätherische Lösung des Omicholins, welche roth ist und grün fluorescirt, weist einen Streifen zwischen D und E, an D angrenzend, auf.

Thudichum[1]) hat auch das Verhalten seiner Harnfarbstoffe zu Benzoylchlorid untersucht.

3. Der Harnfarbstoff nach Schunck.

Schunck[2]) hat zwei Harnfarbstoffe unterschieden, das Urian und das Urianin. Um sie darzustellen, hat Schunck Harn mit Bleizucker gefällt, das Filtrat mit Bleiessig, diesen zweiten Niederschlag ausgewaschen, mit Schwefelwasserstoff oder verdünnter kalter Schwefelsäure zerlegt, die Flüssigkeit, wenn nöthig, mit kohlensaurem Blei neutralisirt und darauf bei gewöhnlicher Temperatur im Luftstrom concentrirt. Der syrupöse Rückstand wurde in wenig Alkohol gelöst und mit viel Aether versetzt, wobei sich das Urianin, $C_{19}H_{27}NO_{14}$, abscheidet und das Urian $C_{43}H_{51}NO_{26}$, in Lösung bleibt. Die Existenz eines dritten, in Alkohol und in Aether unlöslichen Körpers blieb dahin gestellt. Beide Körper zersetzen sich leicht beim Erhitzen mit Wasser oder verdünnten Säuren, das Urian giebt dabei einen braunen harzartigen Körper: Uroretin, und das Urianin einen in Alkohol unlöslichen Niederschlag: Uromelanin. Dieser Befund weicht also noch weit mehr von dem Garrod's ab, als der Thudichum's.

4. Derivate des Urochroms und Verwandtes.

Die braunen oder schwarzen Farbstoffe, welche beim Behandeln des Harns mit Säuren entstehen, entstammen sicher zum Theil dem Urochrom, nach v. Udránszky aber auch den im Harn enthaltenen Kohlenhydraten; diese bilden unter der Einwirkung von Säuren Huminsubstanzen (S. 501). Rosin scheint geneigt, den Ursprung der dunkelgefärbten Farbstoffe, welche er beim Kochen des Harns mit Salpetersäure (Rosenbach'sche Probe) neben Indigroth und Indigblau erhielt, gleichfalls von der Indoxylschwefelsäure abzuleiten. Der Gegenwart von Huminsubstanz schreibt v. Udránszky auch die dunkle Färbung zu, welche manche frisch entleerte Harne direkt darbieten. Hierher gehören auch die Carbolharne.

---

1) Thudichum, Chem. News **68**. 275. 1893; Chem. Centralbl. 1894. **1**. 176.

2) Schunck, Proceed. of the Roy. Soc. **15**. 1; **16**. 72. 126. 135; Journ. f. prakt. Ch. **97**. 382; Ztschr. f. Ch. [2]. 2. 1866. 753; Jahresber. d. Ch. 1866. 750.

a. Uromelanin von Plósz[1]).

Das Uromelanin stellte Plósz in der Weise dar, dass er Harn bei Zutritt von Luft 10—20 Min. mit 5—10% Salzsäure kochte, die entstandene braune Flüssigkeit mit Amylalkohol schüttelte, welcher den Farbstoff aufnimmt, und den Amylalkohol abdestillirte. Die erhaltene Substanz besass nach dem Waschen mit Wasser, schwacher Natronlauge und Salzsäure wesentlich dieselben Eigenschaften wie die Huminkörper von v. Udránszky und wich nur in einigen Punkten von diesen ab. Die sehr bedeutende Ausbeute (5—6 g aus der Tagesmenge Harn) weist auf eine starke Verunreinigung durch Abkömmlinge des Amylalkohols hin; es bildete sich dabei auch der spectroskopisch dem Urobilin ähnliche Körper.

Bemerkenswerth ist die Angabe von Plósz, dass sich das Chromogen dem Harn durch bloses Schütteln mit erneuerten Mengen Amylalkohol so vollständig entziehen lässt, dass sich der Harn bei der nachträglichen Behandlung mit Säure nicht mehr färbt.

b. Die Huminsubstanz von Udránszky[2]).

A. *Eigenschaften.* Die von Udránszky aus dem Harn dargestellte Huminsubstanz bildet spröde, glänzende, schwarzbraune Plättchen, ist fast gar nicht löslich in kaltem Wasser, verdünntem Alkohol, Aether, Chloroform, verdünnten Säuren, sehr schwer in warmem Wasser, absolutem Alkohol, Petroläther, concentrirter Schwefel- und Salzsäure, gut aber in Amylalkohol und in concentrirtem Ammoniak, sehr leicht in Kali- oder Natronlauge. Ich kann hinzufügen, dass die Lösungen keine Absorptionsstreifen zeigen. Concentrirte, etwas salpetrige Säure enthaltende Salpetersäure löst die Substanz mit schön rother, bald verblassender Farbe. Sie ist nicht sublimirbar; beim Erhitzen für sich entwickelt sie den Geruch nach Ameisensäure und hinterlässt beim Verbrennen eine Spur eisenfreie Asche. Die durch Schmelzen mit Kaliumhydrat entstehenden Produkte sind S. 501 angegeben. 100 cc Harn gaben 0,023 bis 0,033, im Mittel 0,029 g Huminsubstanz.

Das Produkt aus normalem Harn enthielt 55,3—56,3% C, 4,2—4,4 H, 8,4—10,3 N; ein Präparat aus diabetischem Harn 55,8% C, 4,25 H, 10,0 N; aus Traubenzucker und Harnstoff gewonnene Huminsubstanz 57,8% C, 4,0 H, 6,7 N; der schwarze stickstofffreie, beim Schmelzen mit Kaliumhydrat bleibende Rückstand 62,0—62,7% C und 3,7—4,0 H.

B. *Darstellung.* Dargestellt wurde die Substanz, indem der Harn auf $^1/_6$ eingedampft, mit 0,1 Volumen Salzsäure 48 Stunden stehen gelassen und das Filtrat gekocht wurde. Nach 2stündigem Kochen war schon der grösste Theil der Substanz gebildet, nach 18stündigem Kochen war das Maximum der Ausbeute erreicht. Das erhaltene feine schwarze Pulver wurde mit kaltem und warmem Wasser, mit Alkohol und Aether gewaschen, 3—4mal in Natronlauge gelöst und mit Schwefelsäure wieder gefällt und endlich über Schwefelsäure getrocknet. Ein in dem orangegelben oder kirschrothen Filtrat gebliebener Rest konnte nach dem Neutralisiren mit Kreide durch phosphorsaures Natron zugleich mit dem Kalkphosphat niedergeschlagen werden.

Kommt bei der Darstellung der Substanz, wie bei dem Verfahren von Plósz, Amylalkohol in Anwendung, so ist die Ausbeute bedeutend grösser und das Produkt von anderer Beschaffenheit. v. Udránszky erhielt so aus 100 cc Harn 0,052 und 0,068 g der Substanz und der braune nach dem Abdestilliren des Amylalkohols bleibende Rückstand gab an warmes Wasser sowie an Aether einen citronengelben Körper ab, dessen concentrirte wässrige Lösung, ähnlich wie eine Urobilinlösung, zwischen E und F des Spectrums und über F hinaus eine diffuse Absorption zeigte, beim Verdünnen einen schmäleren, gleichfalls nicht scharf begrenzten Streifen und ausserdem eine schwache grüne

1) P. Plósz, Ztschr. f. physiol. Ch. 8. 89. 1883.
2) L. v. Udránszky, Ztschr. f. physiol. Ch. 11. 537. 1887; 12. 13. 1888.

Fluorescenz besass. Diese besonderen Erscheinungen rühren nach F. Hoppe-Seyler von der Einwirkung der Salzsäure auf Amylalkohol her, welche schon bei gewöhnlicher Temperatur stattfindet, und sind nach v. Udránszky[1]) bedingt durch einen Furfurolgehalt des rohen Amylalkohols.

c. Die braunen bei der Rosenbach'schen Probe entstehenden Stoffe.

Nach Rosin[2]) hinterlässt das Chloroform, mit welchen die beim Kochen des Harns mit Salpetersäure entstandenen Indigfarbstoffe gewaschen worden sind, beim Verdunsten eine braune Substanz, welche in Chloroform leichter löslich ist als das Indigblau und Indigroth.

Ligroin nimmt aus ihr einen rothbraunen, schön fluorescirenden Farbstoff auf, welcher in Alkohol, Aether, Chloroform leicht löslich ist. Dem mit Ligroin behandelten Rückstand entzieht darnach Aether noch einen rothbraunen, durch Ligroin als braunes Pulver fällbaren Körper, der sich auch in Alkohol und in Chloroform löst. Der nun bleibende dunkelbraune Rückstand löst sich nur in Chloroform und in Alkohol und wird durch Ligroin als dunkelbraunes Pulver niedergeschlagen.

d. Präformirte Huminsubstanz nach v. Udránszky[3]).

Die braune Substanz, von welcher v. Udránszky annimmt, dass sie präformirt im Harn vorkommt, wurde von ihm aus Pferdeharn gewonnen.

Der Harn wurde mit Essigsäure schwach angesäuert, mit Bleizucker ausgefällt, der Niederschlag mit kaltem und warmem Wasser gewaschen, darauf mit concentrirter Sodalösung zerrieben, die dunkelbraune Lösung mit Essigsäure angesäuert und zur Entfernung etwa vorhandener Protokatechusäure, deren Auftreten beim Schmelzen des Produkts mit Kaliumhydrat für die Huminsubstanzen bezeichnend ist, mit Aether ausgeschüttelt. Die Lösung wurde mit Ammoniak wieder alkalisch gemacht und mit Chlorcalcium bei möglichstem Luftabschluss gefällt. Der voluminöse Niederschlag wurde mit ausgekochtem Wasser, mit Alkohol und mit Aether gewaschen und über Schwefelsäure getrocknet.

Der Niederschlag enthielt etwas Eisen und viel Kalk, wie die aus normalem Harn durch Säuren darstellbare Huminsubstanz Stickstoff, unterschied sich von dieser aber durch einen viel geringeren Kohlenstoff- und Stickstoffgehalt; er bestand aus 22,6 % C, 2,3 H, 3,2 N, 54,2 O und 17,7 Ca (vergl. S. 510). Die Substanz bildete ein feines braunes Pulver, das sich in kaltem Wasser, in Alkohol, Aether, Ammoniak nicht löste, sehr wenig in warmem Wasser, leicht in concentrirten Säuren, namentlich in Salzsäure. Aus den Lösungen in concentrirten Säuren schieden sich nach einiger Zeit schwarze Flocken aus, die sich in Natronlauge lösten und aus der Lösung durch Schwefelsäure wieder gefällt wurden. Beim Schmelzen mit Kaliumhydrat entstanden Ammoniak in geringer Menge, Oxalsäure, Ameisensäure, Essigsäure, Buttersäure und höhere Fettsäuren, Protokatechusäure, Brenzkatechin und ein der Hymatomelansäure entsprechender Körper von annähernd derselben Zusammensetzung wie bei anderen Huminkörpern (vergl. S. 501).

Das Auftreten von Huminsubstanz im Pferdeharn mag mit der Nahrung des Thieres zusammenhängen. Ob sich Huminkörper auch in anderen, vor allem dem Menschenharn finden, ist zwar möglich, aber nicht untersucht.

---

1) F. Hoppe-Seyler, Berichte der chem. Gesellsch. **18**. 602. 1885. — v. Udránszky, Ztschr. f. physiol. Ch. **13**. 254. 1889.
2) H. Rosin, Virchow's Archiv **123**. 539. u. 563. 1891.
3) L. v. Udránszky, Ztschr. f. physiol. Ch. **12**. 51. 1888.

e. Die Carbolharne.

Die Harne, welche namentlich nach der äusseren Anwendung von Phenol gelassen werden, besitzen unmittelbar nach der Entleerung entweder die normale Harnfarbe, oder sie sind grünlichbraun. Beiderlei Harne dunkeln dann beim Stehen an der Luft von oben herein, der normal gefärbte wird grünlichbraun, und darauf, wie auch der mit dieser Färbung entleerte, schwarzbraun. Ebenso oder ganz ähnlich verhalten sich auch Harne, welche nach der Einverleibung anderer aromatischer Substanzen entleert werden, so Salol, Hydrochinon, Brenzkatechin, Anilin, Paramidophenol, Salicylsäure, oder welche schon von Haus aus dergleichen Substanzen enthalten, wie der brenzkatechinhaltige Pferdeharn.

Die Ursache der eigenthümlichen Färbung des Phenolharns ist von Baumann und Preusse[1]) in der Gegenwart wahrscheinlich mehrerer Oxydationsprodukte des Hydrochinons nachgewiesen worden.

Solchem mit grünlichbrauner Färbung entleerten sauren Harn lässt sich durch Schütteln mit Aether eine Substanz entziehen, welche sich in Wasser mit bräunlicher Farbe löst und auf Zusatz von Ammoniak schwarzbraun wird, aber Silberlösung nicht reducirt und bei der Oxydation kein Chinon giebt, also nicht aus Brenzkatechin oder Hydrochinon besteht.

Lässt man Harn, welcher Hydrochinonschwefelsäure enthält, in alkalische Gährung gerathen, so wird Hydrochinon frei und oxydirt sich in der alkalischen Flüssigkeit unter Bildung brauner Substanzen an der Luft: der Harn wird dunkler; normaler, mit Hydrochinon versetzter Harn, verhält sich ebenso. Ohne Zweifel erleidet auch das Brenzkatechin, welches in Carbolharnen gleichfalls nachgewiesen wurde, dieselbe Veränderung und auf einen analogen Vorgang dürfte sich die Färbung und Farbenveränderung von Harn, der nach der Zufuhr anderer aromatischer Substanzen entleert wurde, zurückführen lassen.

Das Endprodukt gehört aber den Huminsubstanzen an. F. Hoppe-Seyler hat die Bildung solcher aus Protokatechusäure und Pyrogallol ausserhalb des Organismus dargethan und v. Udránszky[2]) Huminsubstanz in dergleichen Harn nachgewiesen.

Der Harn eines äusserlich mit Phenol behandelten Hundes wurde filtrirt, mit Ammoniak schwach alkalisch gemacht, mit Chlorcalcium gefällt und der Niederschlag nach einander mit kaltem und warmem Wasser, mit Alkohol und mit Aether gewaschen. Bei anhaltendem Schütteln des Niederschlags mit kalt gesättigter Ammoncarbonatlösung wurde fast aller Farbstoff von dieser aufgenommen. Sie wurde bei 60° eingedampft, mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert, die sich ausscheidenden Flocken, wie vorher der Niederschlag, gewaschen, in Natronlauge gelöst, die Lösung mit Schwefelsäure gefällt und der Niederschlag nach dem Waschen über Schwefelsäure getrocknet.

Die so erhaltene Substanz stellte schwarze Plättchen dar und lieferte beim Schmelzen mit Kali kein Ammoniak, aber, wie Huminsubstanz (S. 501) Oxal-

---

[1]) E. Baumann u. C. Preusse, Du Bois' Archiv 1879. 245; Baumann, Pflüger's Archiv 13. 291.

[2]) F. Hoppe-Seyler, Ztschr. f. physiol. Ch. 13. 99. — v. Udránszky Ztschr. f. physiol. Ch. 12. 60.

säure, flüchtige Fettsäuren, Brenzkatechin, Protokatechusäure und einen braunen Schmelzrückstand mit den Eigenschaften einer Säure.

Aus Harn von Hunden, denen Brenzkatechin und Hydrochinon innerlich verabreicht worden war, sowie auch aus normalem nach Zusatz von Hydrochinon dunkel gewordenen Harn konnte gleichfalls stickstofffreie Huminsubstanz dargestellt werden.

Aehnliche dunkle Farbstoffe sind auch bei anderer Gelegenheit wahrgenommen worden. Der Harn eines Kranken, welcher Resorcin erhalten hatte, dunkelte nach Stokvis[1]) an der Luft und schied bei beginnender alkalischer Gährung einen dunkelblauen, lackmoidartigen Farbstoff ab.

Der Farbstoff sublimirte nicht, war völlig unlöslich in Aether, Chloroform, Amylalkohol, Petroläther, absolutem Alkohol. Er löste sich in concentrirter Essigsäure, namentlich Eisessig, mit rother Farbe, fiel bei genauer Neutralisation in vollkommen blauen Flocken wieder aus und löste sich in überschüssigem Alkali mit schön blauer Farbe. Die alkalische Lösung zeigte im Spectrum einen Absorptionsstreifen im Roth gerade vor D, wie eine Lackmuslösung.

Selbst eine verdünnte wässrige Resorcinlösung schied nach Zusatz von wenig Harnsäure und Ammoniak in einiger Zeit einen lackmusähnlichen Farbstoff ab. — Nach Kimmijser[2]) verhält sich der nach Resorcin entleerte Harn auf Zusatz von Zinnchlorür oder Chlormagnesium und Ammoniak ebenso.

Nach dem Gebrauch von Thymol geht nach Blum[3]) beim Nachweis neben Thymolschwefelsäure, Thymolhydrochinonschwefelsäure und Thymolglykuronsäure in den Harn das Chromogen eines eigenartigen Farbstoffs über, der auf Zusatz von Salzsäure auftritt.

II. Urobilin.

Das Urobilin ist zuerst von Jaffé[4]) direkt aus Harn dargestellt worden; dieses besitzt die unten beschriebenen Eigenschaften.

Saillet[5]) hat aus dem Chromogen des Urobilins sein α-Urobilin gewonnen, das in einigen Punkten, namentlich in spectroskopischer Hinsicht von dem Urobilin Jaffé's abweicht; aus dem α-Urobilin lässt sich das dem Jaffé'schen Urobilin ähnliche, aber mit dem Urobilin von Jaffé nicht völlig übereinstimmende β-Urobilin darstellen.

Mac Munn unterscheidet drei verschiedene Urobiline, das normale, das febrile, später pathologisches genannt, und das intermediäre, welches nach seinen Eigenschaften zwischen beiden steht. Das febrile Urobilin, welches Mac Munn irrthümlicher Weise als identisch mit dem typischen Urobilin von Jaffé erklärt, ist wesentlich als ein Gemeng von viel Urobilin mit wenig Hämatoporphyrin erkannt worden, ebenso wie sein Urohämatin, oder nach späterer Bezeichnung Urohämatoporphyrin, Gemenge derselben Farbstoffe mit Vorwiegen des Hämatoporphyrins darstellt. Das normale Urobilin von Mac Munn besitzt dieselben spectroskopischen Eigenschaften wie das von Jaffé, ist aber nach seiner Bildungsweise durch Oxydation aus Hämatin (in schwefelsäurehaltigem Alkohol durch Wasserstoffsuperoxyd), nicht als Urobilin aufzufassen, sondern steht dem Choletelin

1) B. J. Stokvis, Nederl. Tijdschr. voor Geneesk. 1889. **2**. 409; Jahresb. f. Thierch. 1889. 462.
2) Kimmijser, Nederl. Tijdschr. 1883. 725.
3) F. Blum. Deutsche med. Wochenschr. 1891. 186; Ztschr. f. physiol. Ch. **16**. 514. 1892.
4) M. Jaffé, Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1868. 243; 1869. 177; Virchow's Archiv **47**. 405. 1869.
5) Saillet, Revue de médecine **17**. 114. 1897.

nahe, wenn es nicht geradezu als identisch mit ihm bezeichnet werden muss. Garrod und Hopkins[1]) betrachten das pathologische Urobilin von Eichholz als ein Gemeng von Urobilin mit Urorosein, allein der von Eichholz neben dem Band des Urobilins beschriebene Streifen kann bei seiner Lage von D 64 E — D 96 E nicht der des Uroroseins gewesen sein, sondern eher γ des sauren Hämatoporphyrin-spectrums.

Dem Urobilin ähnliche Körper hat man auf verschiedene Weise durch Reduction aus anderen thierischen Farbstoffen dargestellt. Maly erhielt einen solchen Körper bei der Einwirkung von Natriumamalgam auf Biliverdin und Bilirubin: das Hydrobilirubin, angeblich $C_{32}H_{40}N_4O_7$. Hoppe-Seyler einen solchen bei der Reduction von Hämatin und Hämoglobin durch Zinn und Salzsäure, wobei sich zuerst Hämatoporphyrin bildet, ferner beim Schmelzen von Sauerstoff-Hämoglobin, aber nicht von Hämatin mit Kaliumhydrat, Nencki und Sieber durch Behandeln von Hämatoporphyrin mit Zinn und Salzsäure, Garrod[2]) bei der Einwirkung von Aldehyd auf reines Urochrom.

Diese Produkte gleichen sich vor Allem in Bezug auf die Absorption im Blau des Spectrums und die Fluorescenz; ob sie aber trotzdem unter einander und mit dem Urobilin des Harns identisch sind, ist fraglich. So haben Nencki und Sieber beobachtet, dass der Farbstoff aus Hämatoporphyrin beim Stehen an der Luft viel schneller die Fluorescenz und den Absorptionsstreifen verliert, als der Stoff aus Bilirubin bei gleicher Concentration.

Bei zu langer Einwirkung des Reductionsmittels wird auch der Farbstoff, welcher das Spectrum des Urobilins besitzt, in einen farblosen Körper, Urobilinweiss, übergeführt. Sehr oft hat man auch beobachtet, dass in einer Lösung, an welcher nur der Urobilinstreifen wahrnehmbar war, beim Stehen derselben an der Luft wieder das Spectrum des Hämatoporphyrins auftrat, während das, wie u. A. le Nobel, sowie Eichholz[3]) angeben, bei dem Urobilin aus Harn nicht der Fall ist. Wiewohl offenbar Urobilin durch eine reducirende Gährung im Darm aus Bilirubin entsteht, erscheint es verfrüht, das Urobilin ohne Weiteres mit dem Hydrobilirubin zu identificiren.

Die Substanz, welche zuerst Fr. Müller durch anaerobe Gährung von Bilirubin mit Kothbacterien (in Peptonlösung unter Wasserstoffabschluss) und später Ad. Schmidt, Beck, Esser[4]) in ähnlicher Weise aus Gallenfarbstoff erhielt, ist wohl ohne Zweifel als Urobilin anzusehen.

Die dem Choletelin (dieser § A. IV. B. e. 5.) ähnlichen oder mit ihm identischen Oxydationsprodukte des Hämatins (dieser § A. 5. B. 6) und des Bilirubins besitzen nicht nur dasselbe Absorptionsspectrum wie das Urobilin, sondern auch noch andere charakteristische Eigenschaften desselben. Wenn das Hydrobilirubin aber mit dem Urobilin identisch ist,

---

1) Ch. A. Mac Munn, Proceed. Roy. Soc. **31**. 26 und 206; Jahresber. f. Thierch. 1881. 211; Ber. d. chem. Gesellsch. **14**. 1212. 1881; Journal of Physiol. **6**. 34 ff. 1885; **10**. 73 u. 95. 1889. — Eichholz, Journal of Physiol. **14**. 326. 1893. — A. E. Garrod u. F. G. Hopkins, daselbst **20**. 134. 1896.

2) R. Maly, Ann. d. Ch. u. Pharm. **163**. 77. 1872. — F. Hoppe-Seyler, Ber. d. chem. Gesellsch. **7**. 1065. 1874; Ztschr. f. physiol. Ch. **13**. 117. 1889. — Nencki u. Sieber, Monatshefte f. Ch. **9**. 128; Arch. f. exper. Pathol. **24**. 442. — A. E. Garrod, Journ. of Physiol. **21**. 190. 1897.

3) le Nobel. Pflüger's Archiv **40**. 516. 1887. — Eichholz, Journal of Physiol. **14**. 331.

4) Friedrich Müller, Siebzigster Jahres-Bericht d. Schlesischen Gesellsch. f. vaterl. Cultur 1892, Medic. Abtheilung 1. — Ad. Schmidt, Verhandl. des 13. Congresses f. innere Med. 1895. 320. — A. Beck. Wiener klin. Wochenschr. 1895. 617. — Esser, Dissert. Bonn 1896.

so unterscheidet sich das Urobilin von dem Choletelin durch ein anderes Absorptionsverhältniss in den verschiedenen Spectralbezirken. Die Möglichkeit, dass neben dem Urobilin auch Choletelin im Harn erscheinen könne, was zu einer Verwechslung beider führen würde, lässt sich nicht bestreiten. Ob aber wirklich Choletelin im Harn auftritt, ist nicht entschieden (vergl. S. 538).

Gegen die Bildung von Choletelin aus Bilirubin im Körper führt Fr. Müller das Fehlen der leicht kenntlichen, bei der Oxydation vor dem Choletelin auftretenden Farbstoffe an und um die Zunahme des „Urobilins" im Harn nach Blutergüssen in die Gewebe zu erklären, liegt nach Müller kein zwingender Grund zu der Annahme vor, der für Urobilin gehaltene Farbstoff sei durch Oxydation aus dem Hämatin entstanden, da es immer noch möglich sei, dass die Zerfallsprodukte des Blutes in der Leber in Bilirubin verwandelt werden und dieses dann im Darm gleichfalls der Reduction anheimfalle.

Andere braune, dem Urobilin in mehrfacher Hinsicht ähnliche, mit ihm nicht identische Farbstoffe sind wiederholt angetroffen worden (D. II. 3.). In dieser Hinsicht ist es auch nicht überflüssig zu bemerken, dass das Urobilin mit dem braunen Farbstoff verunreinigt sein kann, welcher bei der Einwirkung von Säuren auf Urochrom entsteht.

A. *Vorkommen.* Nach den einwurfsfreien Versuchen von Saillet[1]) enthält frisch entleerter, vor Sonnenlicht geschützter normaler Harn kein Urobilin, sondern ein Chromogen desselben, das Urobilinogen, aus welchem das Urobilin erst durch Einwirkung des Sonnenlichts hervorgeht. Ob unter Umständen neben dem Chromogen Urobilin auftritt, ist nicht bekannt.

Saillet will den Ausdruck Urobilinurie nicht mehr für den Zustand gelten lassen, bei welchem Urobilinogen in grösserer Menge erscheint, sondern für den, bei welchem fertig gebildeter Farbstoff ausgeschieden wird.

Der Gehalt des Harns an Urobilin ist gering. Eine saure Urobilinlösung von der Farbe des Harns zeigt nach Garrod und Hopkins[2]) ein sehr kräftiges Absorptionsband, während eine Lösung von solcher Concentration, dass sie ein so schwaches Band zeigt, wie der Harn nur manchmal, blos eine ganz schwache rosenrothe Färbung aufweist.

In der Tagesmenge Harn eines Gesunden finden sich nach den Untersuchungen von Fr. Müller und D. Gerhardt[3]) Spuren bis 20 mgr (im Mittel aus 5 Bestimmungen 12,3 mg), nach Saillet 30 bis 130 mg. Der Unterschied erklärt sich wohl daraus, dass Saillet vor der Bestimmung alles Urobilinogen in Urobilin verwandelte, Müller und Gerhardt dagegen nicht

Sicher nachgewiesen ist seine Bildung im Darm aus Gallenfarbstoff durch die Einwirkung reducirender Mikroben; seine Menge nimmt mit

---

1) Saillet, Revue de médecine **17**. 114. 1897.
2) A. E. Garrod und F. G. Hopkins, Journ. of Physiol. **20**. 123. 1896.
3) Fr. Müller, a. a. O. — D. Gerhardt, Ueber Hydrobilirubin. Diss. Berlin. 1889.

der Darmfäulniss zu (Harley); es tritt daher nach Fr. Müller im Harn Neugeborner, wegen Mangels an Bakterien im Darm dieser, erst am 3. Tage nach der Geburt auf, fehlt bei Erwachsenen bei vollständigem Verschlusse der Gallenwege (bei Carcinom der Gallenblase oder des Pankreas, bei Icterus catarrhalis) und tritt erst, wie nach Beck[1]) in der Galle, bei Erguss von Gallenfarbstoff in den Darm wieder auf.

Reichlicher findet es sich bei Infectionskrankheiten, namentlich solchen, welche mit schnell eintretender Anämie verbunden sind (Cazeneuve, Müller), bei Blutergüssen in die Gewebe (Kunkel), auch bei gleichzeitigem Verschluss des Gallengangs (Gerhardt), sowie bei Gegenwart von Methämoglobin im Blutplasma (Hayem[2]), daher nach der Einwirkung von Blutgiften.

Im Harn der Pferde wurde das Urobilin vermisst, in dem der Kaninchen findet es sich nicht oder nur in geringer Menge (Beck), im Harn von Hunden und Katzen kommt es nach Fr. Müller nicht vor. Auch Beck sowie Harley fanden im Harn der Hunde kein Urobilin.

Auch in Uratsedimenten ist das Urobilin aufgefunden worden, in den rothen neben Uroerythrin. Das Urobilin lässt sich nach Riva sowie nach Garrod aus den Sedimenten mit Alkohol oder Neutralsalzlösung (Salmiak) wegwaschen. Aus Urobilinlösung fällt die Harnsäure nach Garrod[3]) ungefärbt.

Im nüchternen Zustand ist die Urobilinausscheidung nach F. Grimm[4]) gering, sie hebt sich erst und kann bedeutend werden von der zweiten Stunde nach der Mahlzeit an. Nach Saillet schwankt die Urobilinmenge mit der Tageszeit, und hier namentlich mit der Körpertemperatur gleichsinnig. Die Hauptmahlzeit hat einen steigernden Einfluss. In 8 Nachtstunden wurde ausgeschieden 3,2 und 8,8 mg, in 16 Tagesstunden 28,9 und 79,3 mg. Die geringeren Mengen wurden im Harn einer Frau, die grösseren im Harn eines Mannes gefunden. Der normale Harn enthielt 10 Mal so viel Urobilin als Hämatoporphyrin.

Jedesmal nach Behebung einer Gallenstauung ist die Ausscheidung des Urobilins, wegen stärkeren Ergusses von Galle in den Darm, vermehrt (Fr. Müller). Einfache Stuhlverstopfung ist ohne Einfluss auf die Menge des Urobilins, aber bei Typhus ist das der Fall (E. Barqellini) und bei Gebrauch von Opium (Mac Munn). Bei Phosphorvergiftung verschwinden nach A. Riva[5])

---

[1]) D. Gerhardt, a. a. O. — O. Harley, Brit. med. Journ. Octbr. 1896. — A. Beck, Wiener klin. Wochenschr. 35. 1895. 617; Centralbl. f. d. med. Wiss. 1895. 926.

[2]) P. Cazeneuve, Gaz. méd. de Paris 22. 1877. — A. Kunkel, Virchow's Archiv **79**. 455. — Gerhardt, Zeitschr. f. klin. Med. **32**. 303. 1897. — G. Hayem, Comptes rendus **102**. 700. 1886.

[3]) A. Riva, Gaz. med. di Torino **43**. 1. 1892. — A. E. Garrod, Journ. of Physiol. **17**. 441. 1895. — Derselbe, Proceedings of the Roy. Soc. **55**. 405. 1894.

[4]) F. Grimm, Virchow's Arch. **132**. 269. 1893.

[5]) E. Barqellini, Lo sperimentale 1892. 119; Jahresb. f. Thierchem. 1892. 538; Mac Munn, Journ. of Physiol. **6**. 22. — Riva, Il „Segno“ **1**. 5. Maggio 1890.

Urobilin und Urobilinogen aus dem Harn (und dem Koth) um so vollständiger und anhaltender, je schwerer die Vergiftung ist.

In grosser Menge tritt das Urobilin auf bei atrophischer Lebercirrhose, bei Bleikolik und bei Herzfehlern, hier wegen des oft sehr reichen Gehalts der Galle an Farbstoff (Pleiochromie). Bei sehr vielen Infectionskrankheiten ist das Urobilin vermehrt gefunden worden (Scharlach, Sepsis, Lymphangitis, Pyämie, acuter Gelenkrheumatismus, Pneumonie, Phthisis, Erysipelas, Malaria, weniger Typhus); ferner bei Blutergüssen (in das Gehirn, unter und in die Haut, die Pleura, das Peritoneum, bei Skorbut, Purpura, Lungeninfarct) oft lange Zeit. Reichlich erscheint es bei perniciöser Anämie. In leichten Fällen von Hämoglobinämie tritt nach Boeri Urobilin im Harn auf. Von Blutgiften werden genannt das Antifebrin (Mörner, Fr. Müller, Rovighi), das Antipyrin (Rovighi), das Pyrodin (Boeri); nach länger anhaltender Chloroformnarkose beobachteten Kast und Mester[1]) Zunahme des Urobilins im Harn.

In einem Fall von multiplem melanotischen Sarkom sah Zeller grosse Mengen Urobilin (neben viel Aetherschwefelsäure) abwechselnd mit Melanin auftreten; einen zeitweilig an Urobilin reichen Harn bei melanotischem Sarkom untersuchte auch F. Hoppe-Seyler[2]).

Bei nicht mit fieberhaften Krankheiten complicirter Nephritis fehlt das Urobilin.

Im Allgemeinen ist es nach Riva[3]) da vermehrt, wo auch das Uroerythrin in grösserer Menge auftritt.

Fr. Müller und Gerhardt haben spectrophotometrische Bestimmungen über die Menge des im Harn auftretenden Urobilins ausgeführt. Obwohl sich ein Theil des Farbstoffs in der Form seines Chromogens der Bestimmung entzogen haben mag, gewähren diese Beobachtungen eine Einsicht in die quantitativen Verhältnisse, und da die Publicationen schwer zugänglich sind, theile ich das Wesentliche aus ihnen mit. G. Hoppe-Seyler[4]) ist übrigens auf gewichtsanalytischem Wege zu ähnlichen Ergebnissen gelangt. Müller und Gerhardt haben nicht in allen Fällen die Menge des gefundenen Farbstoffs berechnet, sondern geben nur den Exstinctionscoefficienten (E.) an; derselbe ist direct proportional der Concentration der Farbstofflösung, und die Bestimmung giebt hier nur relative Werthe an.

	mg im Tage	E.
Gesunde bei gemischter Kost . .	Spur bis 20,3	Spur bis 0,134
Mehrtägiger Hunger[5])	9,3	0,099
Ernährung mit Milch	20,1	—
„ „ Fleisch	21,6	—
Atrophische Lebercirrhose . .	426 u. 440	14,30 u. 15,34
Hirntumor	—	12,98
Scharlach	796	7,17 u. 12,01
Perityphlitis *)	2021	—
Bleikolik mit leichtem Icterus	10,99	4,5
Bleikolik nach dem Icterus	29,11	—
Puerperale Sepsis	—	4,0

*) Die Perityphlitis nach Gerhardt[6]) unter dem Gebrauch von Opium am letzten Fiebertag.

---

1) G. Boeri, Rivista clinica e terap. No. 6. Napoli 1893; Jahresb. f. Thierchemie 1894. 670. — K. A. H. Mörner, Ztschr. f. physiol. Ch. **13**. 13. 1889. — A. Rovighi, Centralbl. f. klin. Med. **13**. 537. — A. Kast und B. Mester, Ztschr. f. klin. Med. **18**. 469.

2) A. Zeller, Arch. f. klin. Chirurgie **29**. 245. 1883. — F. Hoppe-Seyler, Ztschr. f. physiol. Ch. **15**. 186. 1891.

3) A. Riva, Clinica med. di Torino 1894. 9.

4) G. Hoppe-Seyler, Virchow's Arch. **124**. 30. 1891.

5) Fr. Müller, auch Virchow's Arch. **131**. Suppl. 68. 1893.

6) D. Gerhardt, Ztschr. f. klin. Med. **32**. 303.

	E.
Pneumonie mit Icterus	2,06
„ ohne „	1,47 u. 3,3
Phthisis.	1,68—3,64
Lebercarcinom	1,25—3,52
Erysipelas	1,38
Herzfehler	1,04—2,66
Hypertrophische Lebercirrhose	0,88—2,35
Lebercarcinom, Beginn des Icterus . .	10,43
„ starker Icterus	0—1,765
Icterus catarrhalis	0—0,174

B. *Eigenschaften.* 1. Das Urobilin ist amorph, nicht zerfliesslich; in der Wärme entwickelt es einen eigenthümlichen Geruch. Seine Farbe ist je nach der Darstellung verschieden. Das mit Ammonsulphat gefällte ist braun, das durch Verdunsten der alkoholischen Lösung erhaltene röthlich braun, und das aus alkalischer Lösung durch Säure gefällte schön roth (Garrod und Hopkins[1]). Es löst sich leicht in Aethylalkohol, auch in säurehaltigem, und in Chloroform, ferner in Amylalkohol, wenig in Aethyläther und in Essigäther, sehr wenig in Wasser. Neutralsalze erhöhen seine Löslichkeit in Wasser bedeutend, doch kann es durch Sättigen seiner Lösungen mit einigen Neutralsalzen mehr oder minder vollständig abgeschieden werden. Aether, Amylalkohol, Chloroform nehmen es aus den salzgesättigten Lösungen auf.

Saillet's[2]) α-Urobilin bleibt beim Verdunsten seiner Lösung in Essigäther oder Chloroform als rosenrother Firniss zurück. Es ist unlöslich in Petroläther, fast unlöslich in Schwefeläther, etwas besser löslich in Essigäther, viel besser in Wasser und in Chloroform, sehr leicht löslich in Alkohol, in Säuren und in Alkalien. Wasser entzieht es vollständig dem Schwefeläther und dem Essigäther, nicht aber dem Chloroform; Chloroform entzieht es dagegen dem Wasser. In Gegenwart von Alkali löst sich das Urobilin besser in Wasser als in den anderen Lösungsmitteln, aber in Gegenwart einer Säure besser in den beiden Aethern und in Chloroform als in Wasser. In gesättigter Ammonsulphatlösung ist es ganz unlöslich; beim Sättigen seiner wässrigen Lösung mit Ammonsulphat fällt es in 1—2 Tagen in feinen amorphen gelblich braunen Körnchen aus.

Das β-Urobilin scheidet sich beim Verdunsten seiner Lösung in Essigäther gleichfalls als rosenrother Firniss ab. Aus seiner Lösung in Ammoniak wird es in Flöckchen abgeschieden, welche im durchfallenden Licht rosenroth, im auffallenden grün erscheinen. Es ist unlöslich in Petroläther und in Schwefeläther, sehr wenig löslich in Essigäther, leichter löslich in Chloroform, in Wasser und in Alkohol, besonders aber in den Alkalien. In Gegenwart irgend einer Säure löst es sich in Essigäther und in Schwefeläther leichter als in Wasser. An der Luft und in Berührung mit selbst sehr verdünnten Säuren geht es wieder in α-Urobilin über.

Von den Neutralsalzen fällt das Ammonsulphat das Urobilin beim Sättigen so vollständig, dass es (zuerst von Méhu) zur Darstellung des Farbstoffs aus Harn empfohlen wurde; die Fällung ist aber erst bei gänzlicher Sättigung

[1]) A. E. Garrod und F. G. Hopkins, Journ. of Physiol. **20**. 125. 1896.
[2]) Saillet, a. a. O. 122 u. 119.

vollständig. Der Niederschlag löst sich wieder in Wasser und durch Aethyl- und Amylalkohol, Aetheralkohol, Chloroform kann ihm Farbstoff entzogen werden. Gar nicht gefällt wird das Urobilin nach Garrod und Hopkins beim Sättigen der Lösung mit Salmiak, sowie nach Edmunds[1]) beim Sättigen der Lösung mit Magnesiumsulphat.

2. Mit den Alkalien (auch Ammoniak) bildet es in Wasser und in Alkohol leicht lösliche Salze. Die Ammonverbindung verliert beim Verdunsten das Ammoniak. Durch die Alkalihydrate kann es der Lösung in mit Wasser nicht mischbaren Lösungsmitteln entzogen werden. Aus den wässrigen Lösungen der Alkaliverbindungen (und seiner Salze überhaupt) wird es durch Säuren in braunen Flocken gefällt.

Verbindungen mit den alkalischen Erden oder den Schwermetallen erhält man durch Zusatz der entsprechenden Salze zu einer Lösung des Urobilins in Alkalihydrat (Ammoniak). Diesen Salzen wird das Urobilin durch angesäuerten Alkohol wieder entzogen. Chlorbaryum giebt nur mit concentrirten Lösungen Niederschläge, mit verdünnten nicht; das Calciumsalz ist erheblich leichter löslich. In neutraler oder schwach alkalischer Lösung giebt das Urobilin mit einigen Metallsalzen (den Bleiacetaten, Zinksalzen) unlösliche oder schwer lösliche Niederschläge. Andere Metallverbindungen des Urobilins fallen entweder gar nicht aus, wenigstens dann nicht, wenn sie aus verdünnten Lösungen dargestellt werden (Kupfer, Silber, Quecksilberoxyd), oder können von Lösungsmitteln in Lösung erhalten werden: das Zinksalz durch die Alkalihydrate, das Kupfersalz durch Ammoniak, andere, wie die Eisensalze und das Mangansalz nach Denigès durch Glycerin. Das Kupfersalz löst sich nach Bogomolow[2]) in Chloroform.

Mit Phosphorwolframsäure geht das Urobilin nach Salkowski[3]) keine in Mineralsäuren unlösliche Verbindung ein.

Alkalische Barytlösung scheint das Urobilin besser zu fällen, als neutrale; die Fällung ist aber immer eine sehr unvollständige. Durch die grössere Löslichkeit seines Barytsalzes in Wasser unterscheidet sich das Urobilin vom Hämatoporphyrin, dessen Barytsalz selbst in siedendem Wasser so schwer löslich ist, dass man dieses Verhalten zur Trennung beider Farbstoffe benützen kann (Huppert). Doch blieb mir einmal beim Auskochen von Urobilin-Baryum ein Theil ungelöst, und dieser bot nach dem Lösen in saurem Alkohol ein sehr dunkles Urobilinband mit kaum verwaschenen Rändern dar, während das bei dem in wässrige Lösung gegangenen Farbstoff nicht in dem Maasse der Fall war.

---

1) C. Méhu, Journ. de pharm. et de chimie [4] **28**. 159. 1878; Bull. de l'Acad. de méd. [2] **7**. 671. — A. E. Garrod u. F. G. Hopkins, Journ. of Physiol. **20**. 119. 1896. — A. Edmunds, Journ. of Physiol. **17**. 451. 1895.

2) Denigès, Journ. de pharm. et de chimie [6] **5**. 395; Chem. Centralbl. 1897. **1**. 1128. — Th. Bogomolow, Petersb. med. Wochenschr. 16. 1892; Jahresb. f. Thierch. 1892. 536.

3) Salkowski, Berliner klin. Wochenschr. **34**. 17. 1897. 353; Chem. Centralbl. 1897. **1**. 1133.

3. Seine Lösungen in indifferenten Lösungsmitteln sind braungelb, verdünntere gelb, ganz schwache rosenroth. Die Lösungen reagiren vollkommen neutral und zeigen eine grüne Fluorescenz; auf Zusatz von Chlorzink zur alkoholischen Lösung erfährt die Fluorescenz eine mehr oder minder beträchtliche Zunahme und die Lösung wird im durchfallenden Licht schön roth.

In säurehaltigem Alkohol löst es sich mit brauner Farbe, welche beim Verdünnen der Lösung erst rothgelb (wie Harn), dann rosenroth, aber nicht gelb wird; die Lösung fluorescirt nicht.

Die alkalischen Lösungen sind je nach dem Grade der Verdünnung braungelb, gelb, rosa. Eine saure braunrothe Lösung wird beim Uebersättigen mit Ammoniak gelb mit einem Stich ins Grüne; auch fluorescirt sie öfter grün, jedoch nicht immer. Auf Zusatz eines löslichen Zinksalzes wird die Lösung zart rosenroth und zeigt nun eine starke grüne Fluorescenz, welche beim Ansäuern verschwindet und bei Wiederherstellung der alkalischen Reaction zurückkehrt.

Bei gleichem Gehalt an Urobilin ist die saure Lösung dunkler als die neutrale, und diese dunkler als die alkalische; mit der Aenderung der Reaction tritt im Sinne der Färbungsintensität auch ein Wechsel des Farbentons ein.

Die Lösung des von Saillet aus dem Chromogen dargestellten α-Urobilins in neutralem oder saurem Wasser ist röthlich gelb, im Chloroform dunkel rosenroth, in angesäuertem Essig- oder Schwefeläther fast rein gelb, in neutralem oder angesäuertem Zustand aber immer stärker röthlich gelb, als gelber normaler Harn. Die Lösung in Kaliumhydrat, in Natriumhydrat und in schwachem Ammoniak ist anfangs grünlich gelb, geht aber schnell in das Rothgelb der neutralen oder sauren Lösung über; die schwach ammoniakalische Lösung ist röthlich mit grüner Fluorescenz, die stark ammoniakalische lichtgelb und ohne Fluorescenz. Die Lösungen in neutralem oder saurem Wasser besitzen keine Fluorescenz; die Lösungen in Essigäther, in Schwefeläther und in Alkohol fluoresciren schön grün, auch noch in Gegenwart von sehr wenig Essigsäure, ferner in schwach ammoniakalischer wässriger Lösung, namentlich auf Zusatz von Chlorzink. Die Fluorescenz erhält man am Besten, wenn man zu einer Lösung des Farbstoffs in reinem Alkohol oder in sehr schwach ammoniakalischem oder sehr schwach essigsaurem Alkohol eine Spur Chlorzink zusetzt. Im durchfallenden Licht ist eine solche Lösung röthlich, erhitzt man sie zum Kochen, so bleibt die rothe Färbung, die Fluorescenz jedoch verschwindet und kehrt beim Erkalten wieder.

Die Lösungen des β-Urobilins sind gelbrosa, stärker rosa in neutraler oder saurer Lösung, stärker gelb in alkalischer Lösung. Keine der Lösungen fluorescirt, auch nicht auf Zusatz von Chlorzink, die suspendirten Flocken des aus seiner Lösung abgeschiedenen Farbstoffs fluoresciren dagegen grün.

Die Fluorescenz kann auch durch Calciumsalze und durch Chlorbaryum hervorgerufen werden, jedoch viel weniger gut als durch Zinksalze; Salze der Magnesia, der Thonerde, des Cadmiums u. a. sind in dieser Hinsicht unwirksam (Jaffé).

Gegenwart fremder Farbstoffe kann nach Hammarsten[1]) das Auftreten der Fluorescenz verhindern.

---

[1]) Hammarsten, Skandinavisches Archiv 3. 330. 192.

Die Metallsalze besitzen häufig eine andere Farbe, als das Alkalisalz, aus dem sie entstanden sind.

Das Quecksilbersalz ist von allen unterschieden durch die schön rosenrothe Farbe seiner Lösungen, auch bei hoher Concentration dieser (A. Schmidt). Kupferoxydsalze rufen auf Zusatz zur alkalischen Lösung nach Bogomolow, nach Denigès, sowie nach Salkowski[1]) eine der Biuretreaction ähnliche rothe oder violette Färbung hervor und ebenso verhalten sich nach Denigès auch die Nickel- und Cobaltsalze. Die Lösung des Kupfersalzes in Chloroform ist nach Bogomolow carminroth. Magnesia- und Cadmiumsalze, Kupferchlorür, die Ferro-, Ferri- und Manganosalze sind nach Denigès ohne Einfluss auf die Farbe. Diese Eigenschaft kommt also nur solchen Metallen zu, welche mit Ammoniak leicht Doppelsalze oder beständige aminartige Verbindungen bilden.

Die schön rothe Färbung, welche eine schwach alkalische Lösung von Urobilin in Natronlauge beim Schütteln mit Calomel annimmt, rührt nicht, wie Zawadzki angiebt, von Urorosein, sondern nach Garrod und Hopkins[2]), von der Quecksilberverbindung des Urobilins her.

Die rothe Farbe hängt nach Garrod und Hopkins[3]) davon ab, ob im Spectrum Blau und Violett sichtbar sind und wie weit das Absorptionsband nach Roth zu gerückt ist (Grün verdeckt). Eine Lösung in (alkoholfreiem) Bromoform erscheint bei höherer Concentration noch roth, als eine in (alkoholfreiem) Chloroform, eine Chloroformlösung bei stärkerer Concentration noch roth als eine in saurem Alkohol. Der linke Rand des Bandes liegt bei der Bromoformlösung aber weiter nach Roth zu. als bei der Chloroformlösung und bei dieser weiter nach Roth zu als bei der alkoholischen. Bei der Quecksilberverbindung ist der Absorptionsstreifen weit nach Roth gerückt.

4. Die Spectren. a. Das saure Spectrum. Die saure alkoholische Lösung des Urobilins zeigt, ebenso wie die Lösungen in neutralen Lösungsmitteln (Alkohol, Chloroform) einen breiten Absorptionsstreifen γ, welcher mit dem linken Rande fast bis b reicht, mit dem rechten Rand F überragt. An der dem Roth zugekehrten linken Seite ist der Streifen schärfer begrenzt als an der dem Violett zugewendeten rechten; bei stärkerer Concentration geht der rechte Rand gleichmässig in die vom violetten Ende hereinragende Verdunkelung über und nur im Sonnenlicht schimmert das Blau noch durch und der linke Rand überschreitet b. Mit zunehmender Verdünnung verkürzt sich das Band namentlich auf der rechten Seite, das Blau wird deutlicher. Der Streifen befindet sich fast an derselben Stelle wie der Streifen des Choletelins in saurer Lösung, ferner wie β des Uroerythrins und γ des Bilicyanins in saurer Lösung. In verdünnten Lösungen verschwindet der Streifen auf Zusatz von Ammoniak oder Lauge bis zur alkalischen Reaction.

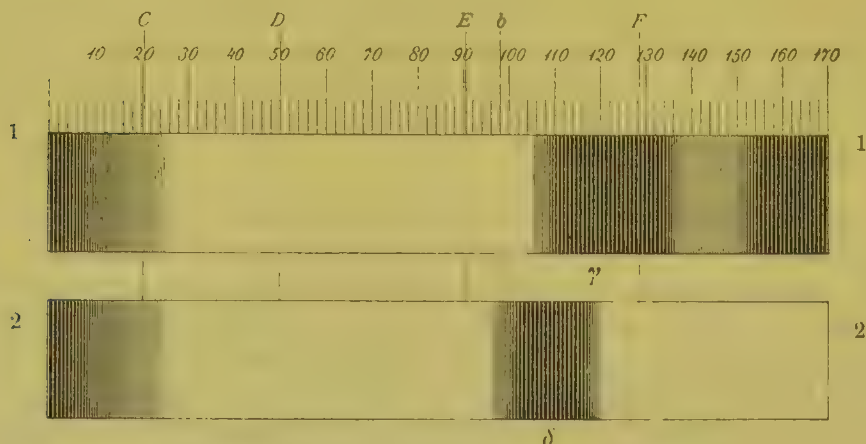
---

1) Bogomolow, a. a. O. — Denigès, a. a. O. — Salkowski, a. a. O.
2) A. Schmidt, Verhandl. des XIII. Congresses f. innere Med. 1895. 320. — J. Zawadzki, Arch. f. exper. Pathol. 28. 451. 1891. — Garrod u. Hopkins, a. a. O. 128.
3) Garrod u. Hopkins, a. a. O. 124 u. 129.

b. Das metallische (alkalische) Spectrum. In concentrirten alkalischen Lösungen ist der weiter nach Roth zu liegende, an b grenzende, an den Rändern verwaschene Streifen δ sichtbar. Die ammoniakalische Lösung zeigt ihn nur, wenn sie arm an Ammoniak oder reich an Farbstoff ist. Der Streifen gehört den Metallverbindungen des Urobilins an; er erscheint auch, zugleich mit der Fluorescenz, auf Zusatz einer alkalischen Chlorzinklösung zu einer (sauren oder neutralen) alkoholischen Urobilinlösung. Er besitzt dieselbe Lage wie der Streifen der Zinkverbindung des Choletelins und wie γ des Bilicyanins in alkalischer Lösung. Beim Ansäuern tritt der Streifen γ an seine Stelle.

Die Cadmiumverbindung zeigt das Band nicht (Jaffé), die Quecksilberverbindung nach Garrod und Hopkins[1]) ein mit dem linken Rande an E grenzendes Band, das Silbersalz nur einen breiten verwaschenen Schatten in der

Fig. 9.



Spectren: 1. des sauren, 2. des metallischen Urobilins.

Gegend von δ. Der Streifen der Kupferverbindung in wässriger Lösung ist schlecht begrenzt (Salkowski), ihre Lösung in Chloroform giebt aber ein scharfes Band auf E (Bogomolow). In schwach alkalischer, fast neutraler Lösung können beide Bänder zugleich auftreten (Garrod und Hopkins); da sie sich mit ihren Rändern decken, so scheint es, als ob γ bis über b reiche.

Bei dem α-Urobilin Saillet's[2]) liegt δ als schmaler verwaschener, nicht so dunkler Streifen als γ zwischen b und F, näher an b als an F; seine Mitte entspricht λ 505. Das Band ist sichtbar in allen fluorescirenden Lösungen (in schwach ammoniakalischen Lösungen, in den Lösungen in reinem Essig- und Schwefeläther und in reinem Alkohol), aber auch in den nicht fluorescirenden mit Kalium- oder Natriumhydrat hergestellten Lösungen. Auf Zusatz von Zinksalz wird es sehr deutlich. In der mit Chlorzink versetzten alkoholischen Lösung verschwindet es nicht bei sehr geringem Zusatz von Essigsäure. Stark ammoniakalische Lösung

---

[1]) Garrod u. Hopkins, a. a. O. 128.
[2]) Saillet, a. a. O. 120.

zeigt das Band nicht. Um diesen Streifen und zugleich die Fluorescenz hervorzurufen, muss das Urobilin möglichst rein und darf nicht mit Reagentien behandelt sein. Beim Erwärmen verschwinden Band und Fluorescenz, beim Erkalten treten beide wieder auf.

Das β-Urobilin zeigt in der Lösung in Chloroform, in Wasser, Alkohol, angesäuertem Schwefel- oder Essigäther, Alkalien ein namentlich links gut begrenztes mit dem linken Rande auf b aufliegendes Band, dessen Mitte λ 535 entspricht. Es hat die Lage wie δ im Spectrum 2.

c. Das Spectrum des freien Urobilins, das E-Band von Garrod und Hopkins[1]). Wenn man eine concentrirte Lösung von Urobilin in sehr schwacher Natron- oder Kalilauge mit Schwefelsäure vorsichtig ansäuert, so trübt sich die Flüssigkeit schwach und zeigt dann neben γ ein gut begrenztes Band, gerade auf E. Es ist etwas schmäler als δ und durch einen Schatten mit γ verbunden. Gelingt es durch wiederholtes Filtiren eine klare Lösung zu erhalten, so weist diese nur γ auf, der schön rothe amorphe Niederschlag auf dem Filter aber das E-Band. Die Lösung des Niederschlags zeigt γ.

Ein Ueberschuss an Säure bringt das Band zum Verschwinden, ebenso Erwärmen, wobei Lösung eintritt; beim Erkalten erscheint das Band nicht wieder. In schwach alkalischer Lösung ist der Streifen nicht zu sehen. — Das Urobilin muss schon nahezu rein und darf noch nicht verändert sein, wenn der Streifen zu Gesicht kommen soll; enthält die Lösung farblose Substanzen, welche durch Säure abgeschieden werden, so schlagen diese das Urobilin mit nieder und das E-Band ist dann nicht sichtbar.

Das mit Säure aus seiner alkalischen Lösung gefällte β-Urobilin Saillet's giebt, in Wasser suspendirt, einen dunklen verwaschenen Streifen, links von E, an E grenzend, dessen Mitte bei λ 535 liegt.

Nach Salkowski giebt eine neutrale alkoholische Lösung von (nach C. IV gewonnenem) Urobilin mit 7 mg Substanz in 100 cc (im Reagensglas von ungefähr 16 mm Durchmesser) einen ausserordentlich starken schwarzen Absorptionsstreifen, eine Lösung mit 3 mg in 100 cc noch einen ziemlich starken Streifen. Natronlauge bringt diesen zum Verschwinden. Auf Zusatz von Kupfersulphat wird die alkalische Lösung rosenroth und zeigt einen undeutlich begrenzten Streifen, auf Zusatz von Chlorzink den dafür charakteristischen Streifen. — Nach Saillet[2]) ist γ kaum noch sichtbar in einer 15 mm dicken Schicht einer Lösung, welche 1 mg α-Urobilin in 22 cc enthält (d. i. bei 10 mm dicker Schicht 6,82 mg in 100 cc).

Nicht selten nimmt man an neutralen Lösungen des aus Harn dargestellten Urobilins einen Schatten wahr, welcher sich an die dem Roth zugekehrte Seite des Bandes anschliesst und sich allmählich gegen das Gelb hin verliert. Er rührt von Indigroth her, wenn der den Schatten veranlassende Farbstoff beim Schütteln der Chloroformlösung mit Ammoniak nicht in dieses übergeht. Manchmal treten in diesem Schatten und im Roth die Streifen des alkalischen Hämatoporphyrins auf und zuweilen kann man solchen Lösungen in Chloroform durch Schütteln mit saurem Wasser Hämatoporphyrin entziehen.

Auch das Spectrum des Uroroseins und das des Uroerythrins kann nach Garrod und Hopkins neben dem Urobilinband sichtbar werden. Ammonsulphat fällt Uroerythrin mit der Harnsäure, sowie das Chromogen des Uroroseins.

---

[1]) Garrod u. Hopkins, a. a. O. 125 u. 139.

[2]) Salkowski, Berliner klin. Wochenschr. 34. 17. 1897. 355 u. briefliche Mittheilung. — Saillet, a. a. O. 125.

5. Das Urobilin erleidet leicht Veränderungen. Es kann zwar nach Jaffé mit verdünnten Alkalien oder verdünnten, nicht oxydirenden Säuren gekocht werden, ohne die beschriebenen optischen Eigenschaften zu verlieren, Oxydationsmittel und reducirende Substanzen verändern es aber leicht.

Nach Saillet dagegen wird das aus dem Chromogen dargestellte α-Urobilin sehr leicht durch Alkalien in der Wärme, selbst in der Kälte in das β-Urobilin übergeführt. Am Besten geschieht diese Umwandlung, wenn man eine Lösung von α-Urobilin in Ammoniakwasser um $^1/_3$ einkocht; Essigäther entzieht der schwach angesäuerten Flüssigkeit das β-Urobilin, die mit in Lösung gegangenen Spuren α-Urobilin können durch Waschen mit Wasser entfernt werden. Es wird durch selbst verdünnte Säuren wieder in α Urobilin zurückverwandelt, weicht aber in seinen Eigenschaften (S. 520 und 522) von dem gewöhnlich als Verbindung des Urobilins mit den Alkalien beschriebenen Produkt ab.

Beim Verdunsten einer wässrigen ätherhaltigen Lösung in der Wärme erfährt das Urobilin nach Garrod und Hopkins eine merkliche Oxydation. Beim Eindampfen seiner Lösungen in Chloroform färbt es sich dunkler und löst sich darnach nicht mehr vollständig in Alkohol. Durch Salpetersäure färbt es sich nicht, wie das Bilirubin, grün, sondern wird gebleicht, namentlich wenn man es nach Zoja in Gegenwart von viel Mineralsäure mit wenig rauchender Salpetersäure erwärmt. Wasserstoffsuperoxyd bringt nach Garrod und Hopkins den Farbstoff gleichfalls zum Verschwinden, wenn auch langsamer als die Salpetersäure. Bromwasser entfärbt seine wässrig-alkoholische Lösung unter Abscheidung gelbweisser Flocken; verdünnte Salzsäure und Kaliumchlorat bleicht die Lösung des α-Urobilin nach Saillet[1]) schnell. Nach Méhu sowie nach Rabuteau wird Kupferoxyd in alkalischer Lösung durch Urobilin zu Kupferoxydul reducirt.

Bei vorsichtiger Oxydation mit Permanganat liefert das Urobilin nach Riva[2]) einen dem Urochrom sehr ähnlichen gelben Farbstoff, welcher sich in Wasser Alkohol, Chloroform und in Phenol löst, aber nicht in Aether und dessen Lösungen keinen Absorptionsstreifen aufweisen.

Durch Natriumamalgam, noch schneller aber durch Zinn und Salzsäure werden Urobilinlösungen entfärbt (Disqué), an der Luft kehren aber die Farbe und das Absorptionsband zurück. Bei der Fäulniss oder der Verschimmelung seiner Lösungen wird das Urobilin nur langsam zerstört. Aus Harn verschwindet es nach Salkowski beim Aufbewahren desselben, ohne dass dieser seine Farbe verliert. Die alkalische Harngährung scheint aber nicht Ursache dieser Zersetzung zu sein. Hoppe-Seyler[3]) machte die Beobachtung, dass Urobilin im Harn bei der Reduction durch Fäulniss und nachherige Oxydation an der Luft einen (anderen) braunen Farbstoff bildet.

6. Eine neutrale oder alkalische Urobilinlösung nimmt auf Zusatz von (wenig) Kupfersulphat nach Salkowski eine der Biuretreaction ähnliche rosenrothe oder violette Färbung an (B. 3).

7. Urobilinogen. Es sind zwei Chromogene bekannt, aus welchen man durch Oxydationsmittel Urobilin erhalten kann. Das eine ist im Harn enthalten, das andere bildet sich bei der Reduction

1) Garrod u. Hopkins, a. a. O. 121. — Saillet, a. a. O. 122.

2) A. Riva, Gaz. med. di Torino **47**. No. 12. 1896.

3) L. Disqué, Ztschr. f. physiol. Ch. **2**. 259. 1878. — Salkowski, Virchow's Archiv **109**. 361. 1887. — F. Hoppe-Seyler, Ztschr. f. physiol. Ch. **15**. 186. 1891.

von Urobilin und verwandten Substanzen. Da ihre Identität nicht erwiesen ist, thut man gut, sie durch den Namen zu unterscheiden; ich nenne das natürliche Chromogen Urobilinogen, das künstliche, nach Analogie von Indigweiss, Urobilinweiss.

Normaler, frisch gelassener vor dem Sonnenlicht geschützter Harn enthält nach Saillet niemals Urobilin, sondern nur Urobilinogen es lässt sich ihm nach dem Ansäuern mit Essigsäure durch Essigäther kein Urobilin entziehen und der Niederschlag, welchen der mit Essigsäure versetzte Harn beim Sättigen mit Ammonsulphat giebt, enthält kein Urobilin. Das Urobilinogen geht unter gleichzeitiger Einwirkung des Sonnenlichts (Saillet) und des atmosphärischen Sauerstoffs (Jaffé[1]) in Urobilin über.

Bereits Jaffé wies in ganz frischem Harn in vielen Fällen (2/3 der untersuchten) das Chromogen, aber neben Urobilin, nach; von Zoja u. A. wurde auch manchmal das Urobilin in frischem Harn ganz vermisst und nur Urobilinogen aufgefunden; solcher Harn wird beim Stehen (an der Luft und im Licht) dunkler und dann lässt sich Urobilin in ihm nachweisen. Frische Harne, in welchen sich bei direkter Untersuchung mit dem Spectroskop kein Urobilin auffinden lässt, zeigen öfter den Urobilinstreifen, nachdem sie beim Stehen dunkler geworden sind (Jaffé, Disqué). Für die wenigstens sehr häufige, vielleicht ausschliessliche Gegenwart von Urobilinogen im Harn spricht auch der Umstand, dass das farblose oder schwach gelbe Filtrat von Harn, der mit den Bleiacetaten ausgefällt war, sich an der Luft von oben her wieder dunkel färbt (Bogomoloff, Külz, A. Bornträger) und dann wieder Urobilin enthält (Hammarsten[2]).

Das Urobilinogen ist farblos, oder nach Saillet sehr schwach gefärbt und besitzt kein Absorptionsband. Das Chromogen lässt sich im (mit Essigsäure angesäuerten) Harn durch Schütteln mit Essigäther (Saillet), Chloroform (C. Gerhardt), Aethyläther, Amylalkohol, Terpentinöl und ähnlichen Lösungsmitteln, gleichzeitig mit dem etwa vorhandenen Urobilin entziehen (Riva und Zoja[3]). Wasser entzieht der Essigätherlösung das Urobilinogen nicht.

Durch Sättigen des Harns mit Ammonsulphat fällt es zugleich mit dem schon vorhandenen Urobilin aus.

Verwendet man dazu frischen Harn und zum Aussalzen neutrales Ammonsulphat, so zeigt der mit absolutem Alkohol bereitete Auszug des Niederschlags nach Eichholz[4]) nur ein sehr schwaches und schmales Urobilinband in der Lage von γ, das auf Zusatz einiger weniger Tropfen Salzsäure dunkler und breiter wird; einmal zeigte die Lösung überhaupt erst auf Zusatz von Säure das Band.

---

1) Jaffé, Virchow's Archiv 47. 422. 1869.

2) L. Zoja, Arch. ital. di clinica medica 1893. 33. — Bogomoloff, Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1875. 210. — Külz, Diabetes mellitus 1874. 35. — A. Bornträger, Ztschr. f. anal. Ch. 20. 88. 1881. — Hammarsten, Skandin. Arch. 3. 322. 1892.

3) C. Gerhardt, Sitzungsber. der physik.-med. Gesellsch. zu Würzburg 1881. 26. — A. Riva und L. Zoja, Communicazione al primo congresso ital. di medicina interna 1888.

4) A. Eichholz, Journ. of Physiology 14. 327. 1893.

Mit dem Chromogen des Urobilins wird beim Sättigen des Harns mit Ammonsulphat nach Garrod und Hopkins[1]) zugleich, wenn es vorhanden ist, das Chromogen des Uroroseins gefällt und beim Ansäuern des alkoholischen Auszugs entsteht dann Urorosein. Der dabei sichtbar werdende Streifen besitzt die Lage wie der des Uroroseins, verschwindet, wenn man die Lösung alkalisch macht und tritt beim Ansäuern wieder auf. Der rothe Farbstoff wird von Chloroform aufgenommen. — Unter denselben Verhältnissen sah Eichholz neben dem typischen Urobilinband ein anderes bei D 64 F — D 96 F auftreten, welches seiner Lage nach wohl eher dem sauren Hämatoporphyrin angehört.

Die Bleiacetate fällen das Urobilinogen nicht oder unvollständig auch durch abwechselnden Zusatz von Baryumnitrat und Natriumcarbonat zu Harn wird es nach Hammarsten nicht oder wenigstens nicht ganz niedergeschlagen. Aus den Bleiniederschlägen geht bei der Behandlung derselben aber nicht das Chromogen, sondern Urobilin in Lösung (Rabuteau, Esoff, Disqué[2]).

Das Urobilinogen ist sehr unbeständig. Sein Uebergang in Urobilin vollzieht sich nach Saillet im direkten Sonnenlicht in einigen Minuten, in zerstreutem Tageslicht in einigen Stunden.

Die verschiedenen Lichtarten sind nicht gleichwerthig. Setzt man die Wirkung des Sonnenlichts = 100, so ist die des rothen Lichts 25, die des gelben 78, des grünen 72, des blauen 94, des violetten 99 (Saillet).

Mineralsäuren, weniger die Essigsäure, beschleunigen seine Bildung sowohl im Harn, wie nach Saillet, in der Essigätherlösung; schnell bewirkt Ammoniak die Umwandlung (Saillet). In den oben genannten mit Wasser nicht mischbaren Lösungsmitteln lässt es sich durch oxydirende Substanzen leicht in Urobilin überführen, (in Chloroform) durch Jod (Gerhardt) oder Salpetersäure (Riva und Zoja), auch in Essigätherlösung (Saillet). Auch Permanganat bewirkt diese Oxydation. Dagegen kann man eine Essigätherlösung des Urobilinogens kochen, ohne dass es sich verändert.

Als einen Unterschied zwischen dem Urobilinogen und dem Urobilinweiss hebt Eichholz[3]) hervor, dass auf Zusatz von Natriumhydrat zu einer Urobilinogenlösung das Urobilinband auch bei Abwesenheit von Luft sofort auftritt, während das Urobilinweiss dabei zu seiner Umwandlung in Urobilin Sauerstoff bedarf.

C. *Darstellung.*

Für die Reinheit des Präparates ist maassgebend, dass es keine andere spectrale Absorption darbietet als das typische Band. Für die Darstellung sind folgende Verfahrungsweisen befolgt worden.

---

1) Garrod u. Hopkins, a. a. O. 135.
2) Rabuteau, Gazette méd. de Paris 27. 1875. — J. Esoff, Pflüger's Archiv 12. 50. 1876. — Disqué, a. a. O.
3) Eichholz, a. a. O. 331.

I. Durch Sättigen mit Ammonsulphat.

1. Sättigt man Harn mit Ammonsulphat, so fällt neben dem Urobilin das in jedem Harn enthaltene Hämatoporphyrin gleichfalls aus und geht bei der späteren Behandlung des Niederschlags mit in Lösung. Garrod fällt bei seinem Verfahren zum Nachweis des Hämatoporphyrins diesen Farbstoff vor dem Urobilin durch einen reichlichen Zusatz von Natron- oder Kalilauge; allein dieses Verfahren gestattet, wie ich mich oft überzeugt habe, keine scharfe Trennung beider Farbstoffe; es bleibt in der Regel etwas Hämatoporphyrin in Lösung. Vollständiger erfolgt die Abscheidung des Hämatoporphyrins, wenn man, wie Fr. Müller[1]) zur Entfernung von Gallenfarbstoff aus dem Harn vorschlug, den Harn mit einer alkalischen Chlorbaryumlösung ausfällt. Dabei wird zugleich die Harnsäure entfernt, welche bei der nachträglichen Sättigung mit Ammonsulphat in den Niederschlag übergehen würde. Aus dem Filtrat wird der überschüssige Baryt am Besten durch concentrirte Natriumsulphatlösung entfernt, die Flüssigkeit mit Schwefelsäure nahezu neutralisirt und, nach abermaligem Filtriren, mit Ammonsulphat gesättigt.

Der flockige, bei saurer Reaction der Flüssigkeit dunkelbraune, bei alkalischer Reaction ledergelbe Niederschlag wird auf einem Faltenfilter gesammelt, mit gesättigter Ammonsulphatlösung einmal übergossen und nachdem er lufttrocken geworden ist, nach Zusatz von verdünnter Schwefelsäure mit Alkohol oder, nach Müller, besser mit einer Mischung von 1 Vol. Aether und 2 Vol. Alkohol (in der Wärme) ausgezogen. Ohne Zusatz von Säure löst sich noch wenig Farbstoff. Die Extraction erfolgt ebenso gut in der Kälte, aber langsam. Aus dieser Lösung kann man das Urobilin in Chloroform überführen, wenn man in ihr Chloroform auflöst und die Mischung in einem Scheidetrichter mit ungefähr dem doppelten Volumen Wasser schüttelt. Das Chloroform setzt sich nach einiger Zeit ab und kann abgelassen werden. Dem Chloroform lässt sich das Urobilin durch Schütteln mit ammoniakalischem Wasser entziehen, wobei zu beachten ist, dass bei Gegenwart von viel Ammoniak leicht eine sich nur sehr langsam in ihre Bestandtheile scheidende Emulsion entsteht. Die Behandlung der Chloroformlösung mit Ammoniak darf auch darum nicht unterbleiben, weil sie eine Trennung des Urobilins vom Indigroth bewirkt, welches nach meiner Erfahrung das Urobilin öfter begleitet; das Indigroth bleibt in der Lösung. Aus der ammoniakalischen Lösung lässt sich das Ammoniak in der Wärme vertreiben. Das Verfahren ist mit einigem Verlust verbunden, weil es nicht gelingt, den Farbstoff vollständig aus einer Lösung in die andere überzuführen.

---

[1]) Fr. Müller, bei D. Gerhardt, a. a. O. u. briefliche Mittheilung.

Ein Vorwurf, welchen man dem Verfahren machen kann, ist, dass durch das Ammonsulphat auch das Urobilinogen gefällt wird; wie weit dieser Umstand von Bedeutung ist, bleibt noch zu ermitteln.

Zum Ausfällen des Harns verwendet man nach Fr. Müller auf 100 cc Harn 30 cc einer Mischung von 1 Vol. gesättigter Chlorbaryumlösung und 2 Vol. gesättigtem Barytwasser. Gleichfalls nach Müller ist Baryt das geeignetste Mittel für die Trennung des Urobilins von den Gallenfarbstoffen. Kalk ist weniger zuverlässig, Baryumhydrat zuverlässiger als die Barytmischung. Nur bei grösseren Mengen von Gallenfarbstoff ist die einmalige Fällung ungenügend; man kann sie dann nach Zusatz von etwas phosphorsaurem oder schwefelsaurem Salz wiederholen.

Die Menge Urobilin, welche im Barytsalz zurückbleibt, ist für die einfache Darstellung des Farbstoffes belanglos. Auch bei häufigem Auskochen desselben mit Wasser gehen noch kleine Mengen von Farbstoff in Lösung und wird der Niederschlag nicht entfärbt. Durch Behandeln eines so gereinigten Niederschlags (aus gallenfarbstofffreiem Harn) mit Natriumcarbonatlösung habe ich ihm manchmal Hämatoporphyrin entziehen können.

In 100 cc Harn lösen sich 75 g Ammonsulphat nicht ganz. Die Sättigung wird schneller erreicht, wenn man das Salz feingepulvert anwendet. Um die Lösung zu beschleunigen muss man fleissig rühren oder das Salz mit dem Filtrat in einer Flasche schütteln. Erwärmen der Flüssigkeit auf 30–40° scheint für das Produkt nicht nachtheilig zu sein; man darf dann aber erst nach dem Erkalten filtriren, weil sich sonst das Filter durch auskrystallisirendes Ammonsulphat verstopft. — Ammonsulphat reagirt in Folge der Gegenwart von freier Säure sauer, und beim Auflösen des Salzes in dem Harnfiltrat nimmt dieses saure Reaction an; will man das vermeiden, so fügt man noch etwas Ammoniak zu.

Schon von Méhu ist empfohlen worden, dem Harn vor dem Salzzusatz 1—2 g Schwefelsäure auf das Liter hinzuzufügen, und wiewohl nach Fr. Müller's vergleichenden Versuchen ein grösserer oder geringerer Zusatz von Schwefelsäure zu dem Harnfiltrat Nichts schadet, so unterlässt man doch besser das Ansäuern deshalb, weil es für die Darstellung des Urobilins überflüssig ist und weil der gewöhnliche Farbstoff des Harns, das Urochrom, durch Säuren zu braunem Farbstoff zersetzt wird.

Aus dem völlig trocknen Niederschlag gewinnt man nach Müller beim Auskochen mit Aetheralkohol nicht soviel Urobilin als wenn es noch feucht ist. Ein dreimaliges Auskochen genügt, doch wird das rückständige Salz auch bei oft wiederholter Extraction nicht farblos erhalten. Die Lösung zeigt auch in dicker Schicht nur den Urobilinstreifen. Die Menge der Säure im Aetheralkohol ist ohne Einfluss.

Die Lösung des Urobilins in Chloroform durch Erwärmen zu verdunsten, ist nicht räthlich, weil das Urobilin dabei seine Eigenschaften verändert.

Eine neutrale Urobilinlösung erhält man, statt (wie nach der oben gegebenen Vorschrift) einer sauren, wenn man nach Eichholz[1]) den Harn direkt, unter Zusatz von Ammoniak, mit Ammonsulphat sättigt, den abfiltrirten Niederschlag so lang an der Luft liegen lässt, bis das Ammoniak entwichen ist, und ihn dann, ohne Zusatz von Säure, mit absolutem Alkohol auszieht. Es löst sich dann aber viel weniger Farbstoff, als bei der Extraction mit saurem Alkohol, und es geht dann auch Hämatoporphyrin in Lösung, was sich namentlich dann störend bemerklich macht, wenn der Harn reich an diesem Farbstoff ist.

2. Garrod und Hopkins[2]) verfahren zur Darstellung des Urobilins in folgender Weise.

---

1) Eichholz a. a. O. 329.
2) A. E. Garrod und F. G. Hopkins, Journ. of Physiol. 20. 118. 1896.

Es wird zuerst die Harnsäure aus dem Harn durch Sättigen desselben mit Salmiak entfernt, wobei höchstens aus urobilinreichem Harn etwas Urobilin mechanisch mit niedergerissen, aber keines wirklich gefällt wird. Löst man dann im Filtrat Ammonsulphat, so entsteht beim Stehen ein Niederschlag von Urobilin in reinerem Zustande, als bei directer Sättigung des Harns mit dem Sulphat. Wasser nimmt aus dem Niederschlag Urobilin zwar nicht besonders leicht auf, aber doch besser als andere Farbstoffe. Der Niederschlag wird demgemäss abfiltrirt und nachdem er trocken geworden ist, mit grossen Mengen Wasser ausgezogen, die Lösung mit Ammonsulphat gesättigt und das Verfahren so oft wiederholt, als man glaubt, dass es nöthig ist. Diese Niederschläge werden getrocknet und mit absolutem Alkohol ausgezogen,

Steht das Urobilin in genügenden Mengen zur Verfügung, so ist es zweckmässiger, den zweiten und dritten Niederschlag in der gerade genügenden Menge verdünnten Ammoniaks zu lösen und die so erhaltene concentrirte Lösung mit Schwefelsäure ganz wenig anzusäuern, wodurch der grösste Theil des Urobilins als ein amorphes braunrothes Pulver gefällt wird.

Der Niederschlag wird besser durch die Centrifuge, als durch Filtriren von der Flüssigkeit getrennt, mit einer kleinen Menge gesättigter Ammonsulphatlösung gewaschen, wieder abcentrifugirt und vom Ammonsulphat durch wiederholtes Auflösen in absolutem Alkohol befreit.

Das Verfahren ist nur dann vortheilhaft, wenn urobilinreicher Harn verwendet wird (Harn, welcher für sich das Urobilinband zeigt).

II. Durch Fällen mit Metallsalzen.

Mac Munn u. A. fällen den Harn mit den Bleiacetaten und ziehen den Niederschlag mit angesäuertem Alkohol aus. Die Bleisalze schlagen aber, wie schon aus der fast vollständigen Entfärbung des Harns zu ersehen ist, auch andere Farbstoffe nieder und die alkoholische Lösung enthält keineswegs blos Urobilin.

Das erste von Jaffé angegebene Verfahren zur Darstellung von Urobilin beruht auf der Anwendung von Zinksalz als Fällungsmittel. Es ist schwer ausführbar und die Ausbeute sehr gering, liefert aber nach Garrod und Hopkins[1]) ein reines Präparat.

Urobilinreicher Harn (Fieberharn) wird mit Ammoniak in nicht zu geringem Ueberschuss versetzt und das Filtrat mit concentrirter wässriger oder alkoholischer Chlorzinklösung ausgefällt. Ist das Filtrat von diesem Niederschlag noch sehr gefärbt, so vervollständigt man die Fällung durch Zusatz von noch etwas Ammoniak. Bei gelungener Fällung reagirt die Flüssigkeit schwach alkalisch. Die voluminösen meist rothen oder rothbraunen Niederschläge werden erst mit

---

1) Garrod und Hopkins, a. a. O. 115.

kaltem, dann mit heissem Wasser chlorfrei gewaschen, dann mit Alkohol ausgekocht, in gelinder Wärme völlig getrocknet, gepulvert, in Ammoniak gelöst, wobei ein geringer Rückstand bleibt, die Lösung mit Bleizucker gefällt und der meist intensiv rothe Niederschlag mit Wasser gewaschen, bis Farbstoff in Lösung zu gehen beginnt. Man digerirt alsdann den Niederschlag mit schwefelsäurehaltigem Alkohol, setzt dem Auszug das halbe Volumen Chloroform und viel Wasser zu und schüttelt wiederholt kräftig. Das von der Flüssigkeit getrennte Chloroform wird ein- bis zweimal mit nur wenig Wasser gewaschen, wobei etwas Farbstoff in Lösung geht und das Chloroform endlich abdestillirt.

Gegen die Reinheit des Präparates ist von Esoff eingewendet worden, dass ihm Aether eine bedeutende Menge röthlicher Substanz entziehe; nach Garrod und Hopkins[1]) ist aber der in ätherische Lösung gehende Farbstoff nichts Anderes als Urobilin selbst.

III. Durch Extraction.

1. Nach Garrod und Hopkins.

Garrod und Hopkins[2]) haben ein Verfahren angegeben, welches darauf beruht, dass dem Harn durch gewisse Lösungsmittel, besonders durch Chloroform, das Urobilin entzogen werden kann. Die Extraction wird aber vollkommener, wenn man den Harn vorher bis zur deutlich sauren Reaction mit Schwefelsäure versetzt und ihn mit Ammonsulphat sättigt.

Sättigte man den Harn direkt mit Ammonsulphat, so fiele mit dem Ammonurat ein Theil des Urobilins aus, welches nicht in das Lösungsmittel überginge; der Harn wird demgemäss vorher durch Sättigen mit Salmiak von der Harnsäure befreit. Dabei hat man noch den Vortheil, dass mit dem Ammonuratniederschlag Farbstoffe und Chromogene mit ausfallen, welche sonst in das Lösungsmittel übergehen würden.

Der Harn wird also erst mit Chlorammon gesättigt, das Filtrat mit Schwefelsäure angesäuert, mit Ammonsulphat gesättigt und dann in einem geräumigen Scheidetrichter mit dem gleichen Volumen einer Mischung von 1 Vol. Chloroform und 2 Vol. Aether geschüttelt. Diese Mischung nimmt zwar das Urobilin nicht so leicht auf, als reines Chloroform, aber sie ist diesem vorzuziehen, weil weniger fremde Substanz in Lösung geht. Die obenauf schwimmende Mischung von Aether und Chloroform wird mit Wasser geschüttelt und giebt dabei den Farbstoff sofort an das Wasser ab, leichter noch, wenn dem Wasser eine Spur Alkali zugesetzt war, um etwa vorhandene Säure zu sättigen; denn die in das Wasser übergehende Säure erschwert die Aufnahme des Urobilins durch das Wasser. Die Mischung von Aether und Chloroform kann noch etwas Farbstoff enthalten, zeigt aber das Urobilinband nicht mehr.

Zu weiterer Reinigung wird die wässrige Lösung wieder mit Ammonsulphat gesättigt, schwach angesäuert und mit der Mischung von Chloroform und Aether geschüttelt. Vor der Sättigung der Flüssigkeit mit dem Salz muss jedoch der in dieselbe übergegangene Aether aus ihr entfernt werden, weil sich sonst der Aether stark gefärbt abscheidet und sich Farbstoff auf der Oberfläche der Flüssigkeit und an der Wand des Gefässes absetzt. Die Entfernung des Aethers hat in der Kälte mittelst eines Luftstroms zu geschehen; beim Abdampfen auf dem Wasserbad würde der Aether eine Oxydation des Urobilins veranlassen. Dieser zweiten

---

1) J. Esoff, Pflüger's Archiv 12. 50. — Garrod und Hopkins, a. a. O. 116.
2) Garrod und Hopkins, a. a. O. 120.

Lösung in Chloroform-Aether wird das Urobilin durch Schütteln mit einer kleinen Menge verdünnten Ammoniaks entzogen, aus der alkalischen Lösung durch Ansäuern gefällt, durch Schütteln mit reinem Chloroform in dieses übergeführt und das Chloroform verdunstet. Zur Entfernung noch vorhandener Spuren Ammonsulphat wird das Urobilin noch in absolutem Alkohol gelöst.

Auch dieses Verfahren ist mit Verlusten verbunden und lohnt sich nur bei der Verarbeitung von urobilinreichem Harn, solchem, welcher direkt den Urobilinstreifen zeigt.

2. Nach Saillet.

Saillet[1]) benutzt Essigäther als Extractionsmittel, und nimmt, um die Bildung von Urobilin aus Urobilinogen zu vermeiden, die Extraction bei Petroleumlicht vor. Um den Verbrauch an Essigäther einzuschränken, werden einzelne Antheile Harn nach einander mit demselben Essigäther behandelt.

Der Harn wird auf 100 cc mit ungefähr 10 Tropfen Eisessig versetzt und dann mit einem ihm gleichen Volumen Essigäther geschüttelt. Das grosse Volumen Essigäther ist erforderlich, um die Bildung einer Emulsion zu vermeiden. Der Aether wird vom Harn getrennt und zur Behandlung einer anderen Harnportion verwendet, wobei man nur noch soviel frischen Essigäther zusetzt, als die erste Harnportion gelöst hat. Eine nochmalige Extraction des Harns mit frischem Essigäther genügt, um ihm alles Urobilinogen zu entziehen. Der ätherische Auszug wird mit wenig Wasser gewaschen, das sich nicht färbt, wenn in den Essigäther nur Urobilinogen und kein Urobilin übergegangen ist. Dann setzt man den Essigäther der Einwirkung des Sonnenlichtes aus und schüttelt ihn, um ihm das gebildete Urobilin zu entziehen, mit wenig Wasser, unter Erneuerung des Wassers, so oft, als sich dieses noch färbt.

Ist eine häufige Behandlung mit Wasser nöthig, so setzt man noch etwas Essigsäure zu. Das Hämatoporphyrin und andere, unbekannte Farbstoffe, welche der Essigäther gleichfalls aufgenommen hat, bleiben dabei in ihm zurück. Die so gewonnene wässrige Urobilinlösnng wird noch mit Aethyläther geschüttelt und ihr dann das Urobilin mit Chloroform entzogen, oder in Gegenwart von wenig Essigäther zur Aufnahme des Urobilins mit Ammonsulphat gesättigt. Beim Verdunsten der Lösungsmittel bei Zimmertemperatur bleibt das Urobilin als rosenrother Ueberzug in dem Gefässe zurück. Zur Erlangung einer einigermaassen lohnenden Ausbeute muss man mehrere Liter Harn in Arbeit nehmen.

Das Verfahren ist nur auf Harn anwendbar, welcher so wenig Eiweiss enthält, wie normaler; bei stärkerem Eiweissgehalte bildet sich eine sehr beständige Emulsion.

IV. Durch Fällen mit Phosphorwolframsäure.

Reines Urobilin giebt mit Phosphorwolframsäure (und Salzsäure) keinen Niederschlag. In Gegenwart von Substanzen, welche durch Phosphorwolframsäure gefällt werden, wird es jedoch mit abgeschieden. Auf diese Eigenschaft gründet Salkowski[2]) folgendes Verfahren.

Urobilinreicher Harn wird mit basischem oder neutralem Bleiacetat ausgefällt, der Niederschlag gut ausgewaschen und noch feucht mit Salzsäure von 1,12 Dichte (100 cc auf 1 Liter Harn) verrieben. Am nächsten Tage wird filtrirt,

---

1) Saillet a. a. O. 118.

2) Salkowski, Berliner klin. Wochenschr. **34**. 17. 1897. 353; Chem. Centralbl. 1897. **1**. 1133.

das Filtrat mit Phosphorwolframsäure gefällt; der Niederschlag mit verdünnter Schwefelsäure fast ganz chlorfrei gewaschen, in Natronlauge gelöst und aus der verdünnten Lösung auf dem Wasserbade Schwefelsäure und Phosphorwolramsäure (unter Erhaltung der alkalischen Reaction) durch Chlorbaryum ausgefällt. Das Filtrat lässt man nach Zusatz von Salzsäure bis zum nächsten Tage stehen, wobei sich ein Niederschlag bildet, welcher neben anderen braunen Farbstoffen oft Urobilin in nicht unerheblicher Menge enthält. Das Filtrat wird mit dem halben Volumen Alkohol und dem gleichen Volumen Chloroform geschüttelt und das von der übrigen Flüssigkeit getrennte Chloroform mit alkoholhaltigem Wasser gewaschen. Beim Waschen mit reinem Wasser geht viel Farbstoff in dieses über. Beim Verdunsten hinterlässt das Chloroform einen glänzenden rothbraunen lackartigen spröden Rückstand, der einen grünen Reflex besitzt. Salkowski hält dieses Urobilin für reiner als das nach Jaffé dargestellte. Das Verfahren ist durchaus nicht einwurfsfrei. Phosphorwolframsäure schlägt das Urochrom nieder und dieses liefert bei der Einwirkung von Säuren braune Zersetzungsprodukte.

Ueber die Trennung des Urobilins vom Hämatoporphyrin vergl. diesen § C. I. D.

D. *Nachweis.*

I. Im Harn direkt.

An Urobilin reicher Harn giebt bei der Gmelin'schen Gallenfarbstoffreaction (dieser § A. IV. C. I. 1. S. 547) nur einen braunen Ring. Dieser Ausfall der Reaction beweist zwar die Abwesenheit von Gallenfarbstoff aber Nichts über die Gegenwart oder das Fehlen des Urobilins. Man muss vielmehr versuchen, die Absorptionsstreifen und die Fluorescenz zu Gesicht zu bekommen.

Die Fluorescenz allein lässt sich in urobilinhaltigem Harn dadurch hervorrufen, dass man ihn mit Ammoniak stark alkalisch macht und das Filtrat mit wenig Chlorzinklösung versetzt. Dasselbe erreicht man nach Gerhardt[1]) ebenso gut, wenn man dem Harn Jodjodkaliumlösung oder Chlorwasser hinzufügt und ihn darauf mit Kalilösung alkalisch macht.

Bei dem Aufsuchen der Urobilinstreifen im Harn selbst ist zu berücksichtigen, dass Harne, welche in frischem Zustand keine bemerkbare Absorption darbieten, die Streifen oft nach längerem Stehen oder auf Zusatz von Säure erkennen lassen. Zur directen spectroskopischen Beobachtung sind aber nur solche Harne geeignet, welche neben dem Urobilin nicht zu viel anderen Farbstoff enthalten.

Der natürliche saure Harn zeigt von den beiden Streifen, wenn überhaupt einen, den sehr schwer wahrnehmbaren Streifen γ, bei F; die Dicke der Harnschicht, bei welcher γ erst sichtbar wird, kann bei normalem Harn 3—6 cm betragen, während umgekehrt Fieberharne und andere urobilinreiche Harne selbst in 1 cm dicker Schicht noch zu dunkel sind und deshalb verdünnt werden müssen. Alkalisch gewordene Harne müssen angesäuert werden, um den Streifen zur Erscheinung zu bringen. Aber auch bei normal sauren Harnen ruft Zusatz einer Mineralsäure in sehr vielen Fällen den Streifen hervor. Zu dem gleichen Zweck kann man sich nach Stokvis auch des Zusatzes einiger Tropfen Jodtinctur zum Harn mit Vortheil bedienen.

Gelingt es auf diese Weise nicht, den Streifen γ sichtbar zu machen, so kann man versuchen, den viel deutlicheren Streifen δ zwischen b und F zu entwickeln; man macht zu diesem Zweck den Harn mit Ammoniak stark alkalisch,

1) C. Gerhardt, Sitzungsber. d. physik. med. Gesellsch. zu Würzburg 1881. 26.

fügt dem Filtrat nur so viel einer Zinksalzlösung zu, dass kein bleibender Niederschlag entsteht, und untersucht die Flüssigkeit in verschieden dicker Schicht vor dem Spectralapparat. -- Zu gleichem Zwecke empfiehlt Denigès[1]) 10 cc Harn mit 5 cc einer Lösung von Mercurisulphat auszufällen, welche durch Lösen von 5 g Quecksilberoxyd in 20 cc Schwefelsäure und 100 cc Wasser hergestellt worden ist. Bei diesem Verfahren werden die störenden Farbstoffe, auch die Gallenfarbstoffe, niedergeschlagen, welche nach 5 Min. langem Stehen abzufiltriren sind. In dem klaren Filtrat ist dann der Streifen des Mercuri-Urobilins (B. 4. b.) sichtbar.

II. Durch Extraction des Urobilins.

1. Als vorzüglich erweist sich die zuerst von Nencki und Sieber empfohlene, dann wieder von Nencki und Rotschy[2]) in Vorschlag gebrachte Behandlung des Harns mit Amylalkohol.

Es werden 10—20 cc Harn mit einigen Tropfen Salzsäure versetzt und mit 6—10 cc Amylalkohol sanft ausgeschüttelt. Die klare amylalkoholische Lösung wird abgehoben und spectroskopisch untersucht. Fügt man ihr einige Tropfen einer klaren Lösung von 1 g Chlorzink in 100 g stark ammoniakalischem Alkohol zu, so tritt eine prächtige grüne Fluorescenz auf und der Absorptionsstreifen δ wird sichtbar.

Das Ansäuern des Harns ist überflüssig. — Der Amylalkohol bildet mit dem Harn bei einigermaassen starkem Schütteln eine sehr beständige Emulsion, und man muss dann oft sehr lange warten, ehe man eine für die Untersuchung genügende Schicht Amylalkohol abheben kann. Die Scheidung gelingt aber nach meiner Erfahrung sofort, wenn man die Emulsion auf ein mit Amylalkohol benetztes Filter bringt. Es filtrirt dann Harn und Amylalkohol zugleich, der Alkohol befindet sich aber im Filtrat als klare Schicht auf der wässrigen Lösung.

Ausser dem Urobilin gehen nach Riva und Zoja auch noch Uroerythrin und Hämatoporphyrin in Lösung, welche aber den Nachweis des Urobilins nicht stören.

2. Statt des Amylalkohols bedient sich Wirsing[3]) des Chloroforms. Die Probe scheint nicht so empfindlich zu sein wie die mit Amylalkohol.

Der Harn wird mit einigen cc Chloroform durch langsames Umdrehen des Reagensglases mehrere Minuten gemischt und das Chloroform darauf mit so viel einer Lösung von Chlorzink in absolutem Alkohol versetzt, bis die anfangs entstehende Trübnng wieder verschwunden ist; oder es werden dem Chloroform einige Tropfen wässriger Chlorzinklösung und darauf Alkohol bis zur Klärung hinzugefügt. Aeusserst selten ist es nöthig noch mit einigen Tropfen Ammoniak oder Kaliumhydrat alkalisch zu machen und dann zu filtriren. Es tritt eine prachtvolle grüne Fluorescenz im auffallenden Licht, eine rosen- oder pfirsichrothe Färbung im durchfallenden Lichte auf; die Fluorescenz nimmt nach längerem Stehen noch zu. Die Absorptionsstreifen sind in der von Chlorzink sauren (chemisch neutralen) und der alkalischen (nach Zusatz des Alkalihydrats) scharf ausgesprochen. — In uribilinarmen Harnen versagt diese Probe.

---

[1]) Denigès, Journ. de pharm. et de chimie [6] **5**. 395; Chem. Centralbl. 1897. **1**. 1129.

[2]) M. Nencki u. N. Sieber, Journ. f. prakt. Chem. [2] **26**. 336. 1882. — M. Nencki u. A. Rotschy, Monatshefte f. Chemie **10**. 573. 1889.

[3]) E. Wirsing Acute gelbe Leberatrophie mit günstigem Ausgang. Aus den Verhandl. der physik.-med. Gesellsch. zu Würzburg [2] **26**. Würzburg, Stahel-sche Buchh. 1892. 34.

Das Chloroform nimmt auch das Urobilinogen auf und auf der Gegenwart desselben beruhen zum Theil folgende von C. Gerhardt[1]) angegebene Reactionen.

Versetzt man den Chloroformauszug mit Jod-Jodkalium und schüttelt darauf mit verdünnter Kalilauge, so färbt sich diese gelb bis gelbbraun und fluorescirt prachtvoll grün. Natronlauge statt Kalilauge giebt eine goldgelbe bis zimmtfarbene, in dünnen Schichten schön pfirsichrothe Lösung. Ammoniak wird nur blassgelb mit einem leichten Stich ins Grünliche. — Zusatz von Chlorwasser zu dem Chloroformauszug ruft rasch hintereinander gelb und roth, dann langsamer blassblau hervor; nur das gelbe Produkt liefert mit Kalilauge die grüne Fluorescenz. — Chlor erzeugt dieselbe Farbenfolge auch in einem Chloroformauszug, der nur das Chromogen des Urobilins und noch nicht den Farbstoff selbst enthält.

3. Schüttelt man Harn mit 90 proc. Phenollösung (Acid. carbol. liquefactum), so nimmt nach Kramm[2]) das Phenol mit anderen Farbstoffen auch das Urobilin auf.

Nachdem eine Scheidung der Flüssigkeiten eingetreten ist, hebt man den aufschwimmenden Harn ab, schüttelt das Phenol mit dem doppelten Volumen Aether und etwas Wasser und klärt durch einige Tropfen Alkohol. Die Lösung zeigt entweder direkt oder nach dem Abgiessen und Verdunsten des Aethers den Urobilinstreifen und auf Zusatz von Chlorzink und Ammoniak die grüne Fluorescenz.

4. Auch der Aether lässt sich mit Vortheil zur Extraction des Urobilins aus Harn verwenden; doch steht er wohl den beiden erwähnten Extractionsmitteln nach.

Salkowski hat die Angabe gemacht, dass es manchmal gelingt, dem Harn direkt durch sanftes Umschütteln mit dem halben Volumen alkoholfreiem Aether Urobilin zu entziehen, welches dann beim Verdunsten des Aethers zurückbleibt; Gegenwart von Alkohol oder von Essigsäure sollen aber diesen Nachweis verhindern. Grimm dagegen hat sich des käuflichen Aethers zum Auffinden des Urobilins im Harn ohne Anstand bedienen können. Den Harn vor der Behandlung mit Aether mit reiner rauchender Salzsäure zu kochen, wie Grimbert[3]) empfiehlt, ist wohl überflüssig.

5. Essigäther entzieht dem mit Essigsäure angesäuerten Harn nach Saillet (C. III. 2.) leicht Urobilin.

6. Das von Garrod und Hopkins zur Darstellung von Urobilin angegebene Verfahren (C. III. 1.) erweist sich insofern vortheilhaft für den Nachweis, als es auch in urobilinarmen Harnen das Urobilin noch auffinden lässt.

Die Extractionen versagen manchmal. Bei einer von Hammarsten ausgeführten Untersuchung von Sulfonalharn entzogen Aether oder Chloroform dem angesäuertem Harn keinen Farbstoff, Amylalkohol aber einen braunen, der kein Urobilin war, wiewohl im Bleiniederschlag des Harns Urobilin nachgewiesen werden konnte. — Quincke hat einen Sulfonalharn mit einem Absorptionsband

---

1) C. Gerhardt, a. a. O.

2) W. Kramm, Deutsche med. Wochenschr. 2. 1896. 27.

3) Salkowski, Zeitschr. f. physiol. Ch. 4. 134. — F. Grimm, Virchow's Archiv 132. 250. 1893. — Grimbert, Journ. de pharm. et de chimie 18. 481; Chem. Centralbl. 1889. 36.

von b—F untersucht, ohne dass Amylalkohol, Chloroform, Aether den Farbstoff aufnahm. Hoppe-Seyler[1]) fällte melanotischen Harn erst mit Bleizucker, dann mit Bleiessig, zersetzte den Bleiessigniederschlag mit Natriumcarbonat und neutralisirte die Lösung mit Schwefelsäure. Es wurde so ein brauner, im Wasser leicht löslicher Körper gewonnen, der sich spectroskopisch wie Urobilin verhielt, in Aethylalkohol löslich war, aber nicht in Chloroform. — Braune Substanzen, deren Lösungen fluorescirten, aber kein Urobilinspectrum darboten, sind öfter beobachtet worden.

7. Zum Nachweis des fertig gebildeten Urobilins neben dem Urobilinogen eignet sich das Verfahren von Saillet (C. III. 2.).

Der frisch gelassene, im Dunkeln gehaltene Harn wird mit Essigsäure angesäuert und mit dem gleichen Volumen Essigäther ausgeschüttelt. Wasser entzieht dem Essigäther das bereits vorhandene Urobilin und färbt sich dabei braun. Das im Essigäther gebliebene Urobilinogen wird im Sonnenlicht (an der Luft) zu Urobilin.

8. Eine sichere Unterscheidung des Urobilins von Choletelin liesse sich mittelst einer spectrophotometrischen Untersuchung erreichen, wenn zwischen beiden Farbstoffen in den Absorptionsverhältnissen in verschiedenen Spectralbezirken Unterschiede vorhanden wären, wie zwischen dem Hydrobilirubin und dem Choletelin (S. 545). Vielleicht eignet sich zu einer solchen Untersuchung der neben dem Urobilinogen vorhandene Farbstoff (D. II. 7.).

III. Melanin.

Syn. Phymatorhusin.

A. *Vorkommen.* Kranke mit melanotischen Neubildungen entleeren entweder sogleich einen dunklen oder zeitweilig einen Harn, welcher erst beim Stehen an der Luft oder durch Oxydationsmittel, wie Salpetersäure (Bolze), Chromsäure (Eiselt), Bromwasser (Zeller), Eisenchlorid (v. Jaksch[2]), dunkelbraun bis schwarz wird.

B. *Eigenschaften.* Der Farbstoff ist eingehend von Mörner, das Chromogen zum Theil in Gemeinschaft mit Ganghofner von Pribram[3]) untersucht worden.

1. Der Farbstoff. a. In dem Harn, aus welchem Mörner den Farbstoff darstellte, war niemals Chromogen nachweisbar. Er war stark gefärbt, wie Fieberharn. Ein Theil des Farbstoffs wurde aus dem Harn durch Barytwasser, ein anderer aus dem alkalischen Filtrat durch Bleizucker gefällt. Der im Barytniederschlag enthaltene Farbstoff darf als der reinere betrachtet werden (d. § A. I. 4. d. S. 511).

[1]) Hammarsten, Skandinav. Archiv **3**. 334. 1892. — H. Quincke, Berliner klin. Wochenschr. 36. 1892; Jahresb. f. Thierch. **22**. 534. — F. Hoppe-Seyler, Ztschr. f. physiol. Ch. **15**. 186. 1891.

[2]) Bolze, Prager Vierteljahrsschr. **66**. 140. 1860. — Eiselt, das. **70**. 107. 1861 u. **76**. 16. 1882. — Zeller, Archiv f. klin. Chirurgie **29**. 245. 1883. — v. Jaksch, Ztschr. f. physiol. Ch. **13**. 385. 1889.

[3]) K. A. H. Mörner, Ztschr. f. physiol. Ch. **11**. 66. 1887. — A. Přibram, Prager Vierteljahrsschr. **88**. 16. 1865; Pribram u. Ganghofner, das. **130**. 77. 1876.

Der nach dem Waschen hellbraungelbe Barytniederschlag lieferte bei der Behandlung mit conc. Sodalösung eine fast braunschwarze Lösung, aus welcher durch Uebersättigen mit Schwefelsäure beinahe aller Farbstoff niedergeschlagen wurde. Der Niederschlag wurde in Natronlauge gelöst und die Lösung mit überschüssiger Essigsäure versetzt, wobei der grösste Theil des Farbstoffs fiel, ein Rest gelöst oder in der Flüssigkeit suspendirt blieb. Nach nochmaligem Lösen des Niederschlags in Natronlauge und Fällen mit Essigsäure wurde der Farbstoff, zur Entfernung etwa beigemengter Harnsäure nur in so viel Lauge gelöst, dass Barytwasser keinen Niederschlag gab und die Lösung mit Baryumhydrat 24 Stunden stehen gelassen; das Filtrat wurde mit überschüssiger Essigsäure gefällt, der Niederschlag erst mit Wasser säurefrei gewaschen, dann nach einander in Alkohol und in Aether aufgeschwemmt und im Wasserbad getrocknet. — Der in der essigsauren Lösung befindliche Rest konnte durch Baryumhydrat abgeschieden werden. In beiden Portionen wurde der Farbstoff in einen in Essigsäure von 50—75 % löslichen und einen darin unlöslichen Antheil getrennt. — Aus dem Bleiniederschlag konnten in ähnlicher Weise ebenfalls zwei Farbstoffe dargestellt werden, von denen der eine in starker Essigsäure löslich war, der andere nicht. Der in Essigsäure unlösliche Theil verhielt sich nach dem Lösen in Natronlauge optisch nicht wie Urobilin, ebensowenig in ammoniakalischer zinkhaltiger Lösung.

Der in Essigsäure (von 50—75 %) unlösliche Antheil des Barytniederschlags war trocken braunschwarz, amorph, schmolz bei 120° nicht. Er löste sich nicht in Wasser, Aether, Amylalkohol und verdünnten Säuren. Schwefelsäurehaltiger Alkohol löste beim Kochen wenig. Von concentrirter Schwefelsäure wurde er in der Wärme theilweise mit brauner Farbe gelöst und durch Wasser wieder aus der Lösung gefällt. Concentrirte Essigsäure löste ihn selbst bei anhaltendem Kochen nicht, auch nicht bei Gegenwart von Zinn. Sehr leicht löslich war der Farbstoff dagegen in Natronlauge, Ammoniak, kohlensaurem Natron, einfach saurem Natronphosphat. Die Lösung in Natronlauge war mit abnehmender Concentration dunkelrothbraun, gelbbraun, gelb. Aus der Lösung in verdünnter Natronlauge wurde er durch Baryumhydrat, Chlorbaryum und schwefelsaure Magnesia gefällt, aus stärkerer (1—2 proc.) Lauge erst durch viel Barytwasser, aus der Lösung in Natronlauge leicht und vollständig durch essigsaures Blei. Auch aus der Lösung in verdünntem Ammoniak wurde er leicht durch Baryumhydrat, schwefelsaure Magnesia, Bleiacetat, aus der Lösung in Natronphosphat vollständig durch Chlorbaryum gefällt. Die alkalischen Lösungen gaben mit Säure Niederschläge; die Lösung in Natronphosphat konnte fast bis zum Verschwinden der alkalischen Reaction mit Salzsäure versetzt werden, ohne dass ein Niederschlag entstand, ein Ueberschuss von Salzsäure fällte aber. — Nach zweimonatlichem Aufbewahren des Farbstoffs in trockner Form gab seine Lösung in kohlensaurem Natron mit Essigsäure keinen Niederschlag mehr, wohl aber wurde die mit Essigsäure übersättigte Lösung gefällt durch essigsaures Natron, Chlornatrium, Baryumhydrat und der so erhaltene Niederschlag löste sich nicht wieder in Essigsäure. Durch Salzsäure konnte die Lösung in Soda gefällt werden. — Salpetersäure von 25 % löste den Farbstoff leicht mit gelber Farbe; durch Ammoniak wurde die Färbung stärker. Nach der Digestion mit 10 proc. Salzsäure war der wieder gefällte Farbstoff nicht mehr braunschwarz, sondern braungelb und lockerer, und enthielt bedeutend weniger Eisen als vorher. Beim Erwärmen des Farbstoffs mit Kalilauge im Wasserbad bildete sich kein Schwefelkalium.

Keiner der Farbstoffe zeigte in Lösung ein **Absorptionsband**, alle absorbirten das Licht nach den ausgeführten photometrischen Messungen von Roth gegen das violette Ende allmählich stärker, die alkalische Lösung des in Essigsäure unlöslichen Antheils des Barytniederschlages 5 mal so stark als eine Hämoglobinlösung von gleicher Concentration. Die Lösungen der in Essigsäure löslichen Präparate absorbirten unter sich das Licht in gleicher Weise, ebenso die der in Essigsäure unlöslichen Farbstoffantheile, aber beiderlei Präparate stimmten in dieser Hinsicht nicht überein.

Der in Essigsäure unlösliche Farbstoff des Barytniederschlags aus dem Harn besass dieselbe Lichtabsorption und genau dieselbe Zusammensetzung (aschefrei

55,76% C, 5,95 H, 12,27 N, 9,01 S, 0,20 Fe) wie der entsprechende Farbstoff aus der Neubildung (55,72% C, 6,00 H, 12,30 N, 7,97 S, 0,07 Fe). Der Unterschied im Eisengehalt rührt daher, dass der Geschwulstfarbstoff mit 10proc. Salzsäure gekocht worden war; auch der Eisengehalt des Harnfarbstoffs sank bei gleicher Behandlung auf 0,028%. Der Farbstoff besass, auch in der Zusammensetzung, eine sehr grosse Aehnlichkeit mit dem Phymatorhusin (φῦμα Geschwulst, ῥούσιος rothbraun) genannten. von Berdez u. Nencki[1]) aus melanotischen Geschwülsten des Menschen dargestellten Farbstoff.

b. Brom färbt den melanotischen Harn nicht blos dunkel, sondern giebt auch einen braunschwarzen Niederschlag von Brommelanin. Zeller fand in demselben 16,6% Brom. Er löste sich nur wenig in heissem Alkohol und seine Asche enthielt nur eine Spur Eisen.

c. Hoppe-Seyler[2]) erhielt beim Schmelzen eines mit neutralem essigsauren Blei aus Harn abgeschiedenen Melanins mit Kaliumhydrat Ammoniak, Indol, Huminsäure und Protokatechusäure, aber kein Brenzkatechin.

d. Pollak fand bei seiner Untersuchung des Chromogens und Hofmeister[3]) bestätigte, dass die in melanotischem Harn durch Oxydation hervorgerufene Dunkelfärbung durch Reductionsmittel wieder zum Verschwinden gebracht werden kann.

2. Das Chromogen. a. Das Chromogen liess sich in der Untersuchung von Přibram durch alkalische Erden nur unvollständig aus dem Harn abscheiden, völlig dagegen durch essigsaures Blei. Der weisse Niederschlag gab nach der Suspension in Wasser dieselben Pigmentreactionen, wie der Harn selbst und lieferte nach dem Zersetzen mit Schwefelwasserstoff ein völlig farbloses Filtrat, welches sich beim Verdunsten allmählich dunkel färbte und einen braunschwarzen amorphen Niederschlag hinterliess. Nach dem Waschen mit Alkohol und mit Aether erwies sich derselbe als unlöslich in Wasser, kaltem Alkohol, Aether, verdünnten Mineralsäuren und Essigsäure. Beim Kochen mit dem Farbstoff färbte sich der Alkohol braun und die Lösung lieferte beim Verdunsten einen ähnlichen Rückstand, wie die wässrige Lösung des Chromogens. Bei der trocknen Destillation entwickelte der Farbstoff ammoniakalische Producte und hinterliess wenig eisenhaltige Asche. Beim Schmelzen desselben mit Kali bildete sich eine flüchtige Fettsäure, dem Geruch nach Buttersäure. — Der bei einer anderen Darstellung gewonnene, dem beschriebenen ähnliche Farbstoff löste sich auch nicht in kalter Salzsäure oder Salpetersäure; wurde er mit Salpetersäure erwärmt, so entwickelte die Säure braune Dämpfe und färbte sich gelbgrünlich, ohne dass sich der Farbstoff selbst sichtlich veränderte. Durch Kochen mit Kalilauge und durch Chlorwasser wurde der Farbstoff entfärbt und zum Theil gelöst. Neben diesem Farbstoff wurde (aus dem Kalkniederschlag) noch ein zweiter brauner Farbstoff gewonnen, welcher sich in Alkohol, Aether, Säuren und Alkalien mit brauner Farbe löste.

b. In der Untersuchung von Brandl und Pfeiffer[4]) blieb steriler melanotischer Harn unter Luftabschluss hellgelb. Das Melanogen liess sich zum grossen Theil mit neutralem Bleiacetat ausfällen. Nach dem Zerlegen desselben mit Schwefelwasserstoff wurde ein hellgelbes Filtrat erhalten, das aber, selbst im Dunkeln, schnell braun und schliesslich schwarz wurde. Bevor das Filtrat dunkel

---

1) J. Berdez u. M. Nencki, Arch. f. exper. Pathol. **20**. 346. 1886.
2) F. Hoppe-Seyler, Ztschr. f. physiol. Ch. **15**. 186. 1891.
3) S. Pollak, Wiener med. Wochenschr. 1889. 1473 u. 1516. — F. Hofmeister, Ztschr. f. analyt. Ch. **30**. 262.
4) J. Brandl u. L. Pfeiffer, Ztschr. f. Biologie **26**. 372. 1890.

wurde, zeigte es, in saurer Lösung, einen Absorptionsstreifen in der Lage des Urobilinbands, der auf Zusatz von Ammoniak verschwand; Fluorescenz war auf Zusatz von ammoniakalischer Zinklösung nicht wahrnehmbar. Bleiacetat und Ammoniak fällte den in Lösung gebliebenen Rest des Chromogens; die gefällte Substanz war in Aether löslich und färbte sich durch Oxydationsmittel dunkel.

C. *Nachweis.* Der Nachweis des Melanins geschicht durch die S. 535 genannten Oxydationsmittel. Senator[1]) beobachtete in einem Fall als Ursache der Dunkelfärbung einen reichlichen Gehalt an Indican. Vermeiden lässt sich dieser Zwischenfall nicht, aber im Zweifelsfall müsste der gebildete Farbstoff auf Indigblau untersucht werden. Auch ein starker Gehalt des Harns an Urobilinogen kann zu Irrungen führen.

IV. Gallenfarbstoffe.

Man unterscheidet von den Gallenfarbstoffen Bilirubin, Biliverdin, Bilifuscin und Biliprasin; die drei letztgenannten sind Oxydationsprodukte des Bilirubins. An diese schliessen sich als weitere farbige Oxydationsprodukte derselben Cholecyanin (Bilicyanin), Choletelin und ein von Stokvis beschriebener reducirbarer Körper an.

A. *Vorkommen.* Gallenfarbstoff tritt nur bei längere Zeit anhaltender Gallenstauung im Harn auf. Von den verschiedenen Farbstoffen ist mit voller Sicherheit in frischem icterischen Harn nur das Bilirubin aufgefunden worden; dass auch Bilifuscin, Biliprasin, und Biliverdin in frisch entleertem Harn vorkommen, ist wenigstens nicht die Regel, aber sie bilden sich leicht beim Stehen des Harns an der Luft. Auch in den Uratsedimenten kann sich der Gallenfarbstoff finden, selbst die ganze im Harn enthaltene Menge. Das Spectrum des Cholecyanins hat Heynsius einige Male an icterischem Harn beobachtet. Auch das Choletelin glauben Heynsius und Campbell als häufigen Bestandtheil des icterischen Harns bezeichnen zu dürfen, während Andere im icterischen Harn neben dem Gallenfarbstoff oder an Stelle desselben das dem Choletelin spectroskopisch zum Verwechseln ähnliche Urobilin nachgewiesen haben. Der reducirbare Stoff von Stokvis (B. g) findet sich in geringer Menge bei Icterus, bei fieberhaften Krankheiten und bei längere Zeit hungernden Thieren, sowie nach Zeehuisen[2]) noch längere Zeit nach Ablauf des katarrhalischen Icterus. — Die Färbung des icterischen Harns entspricht nicht seinem Gehalt an Bilirubin; es können lichte Harne reich, dunkle arm daran sein; in der Tagesmenge Harn fand Schwanda 2—15 mg in 100 cc.

---

[1]) Senator, Charité-Annalen **15.**; Jahresber. f. Thierchem. 1891. 429.
[2]) Heynsius und Campbell, Pflüger's Archiv **4.** 545. 1871. — Stokvis, Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1873. 3. — H. Zeehuisen, Zeitschr. f. klin. Med. **27.** 190. 1895.

Im normalen menschlichen Harn kommt der Gallenfarbstoff nicht vor, dagegen oft im Harn gesunder und kranker Hunde.

Die Harnsäure, welche sich aus icterischem Harn abgeschieden hat, ist nach Garrod[1]) braun, aber in verschiedenen Nuancen, je nachdem der Harn mehr Bilirubin oder mehr Biliverdin enthält. Die Uratsedimente aus bilirubinreichem Harn sind röthlich braun und die einzelnen Krystalle ungewöhnlich reich und warm orange; die Sedimente aus biliverdinreichem Harn sind lederbraun und die einzelnen Krystalle eigenthümlich grünlich. Der Farbstoff lässt sich ihnen durch die passenden Lösungsmittel entziehen. — Das „Hämatoidin" in Harnsedimenten wird in vielen Fällen Bilirubin gewesen sein.

B. *Eigenschaften.* a. Bilirubin $C_{32}H_{36}N_4O_6$.

1. Das Bilirubin ist amorph und krystallisirt erhalten worden. Das krystallisirte bildet dunkelrothe kurze dicke rhombische Prismen, das amorphe ist orangeroth. Es löst sich nicht in Wasser; spurenweise in Aether, wenig mehr in gewöhnlichem Alkohol, in heissem Amylalkohol und in Glycerin mit gelber Farbe, leicht in Chloroform mit gelber bis dunkel bräunlich rother Farbe, ferner wenig in Schwefelkohlenstoff, in Benzol, Nitrobenzol, Aethylenbromid, in Phenol, in Terpentinöl und in fetten Oelen. Chloroform nimmt das Bilirubin beim Schütteln auch aus solchen Flüssigkeiten auf, in welchen es als solches enthalten ist. Aus der Chloroformlösung sowie aus der Lösung in Schwefelkohlenstoff und in Benzol scheidet es sich beim Verdunsten krystallinisch ab.

2. Es löst sich in den Alkalihydraten, Alkalicarbonaten und den alkalisch reagirenden Phosphaten, indem es mit den Alkalien salzartige Verbindungen bildet. Diese lösen sich in Wasser leicht mit gelber bis tief orangerother Farbe, in Alkalilaugen aber weniger als in Wasser; die alkalischen Lösungen färben sich an der Luft unter Oxydation leicht braun und grün. Durch Schütteln mit verdünnter Natronlauge wird das Bilirubin der Chloroformlösung entzogen. Durch Salze der alkalischen Erden und der schweren Metalle (Blei, Silber, Zink), nach Camerer auch durch ammoniakalische Silberlösung, wird es aus seinen alkalischen Lösungen als salzartige Verbindung gefällt. Barytsalze schlagen es nach Fr. Müller vollständiger nieder als Kalksalze. Es fällt nach Méhu[2]) beim Sättigen seiner wässrigen Lösungen (Harn) mit Ammonsulphat aus, der Niederschlag löst sich wieder in Wasser.

Sättigen der Lösung mit Salmiak fällt den Farbstoff auch, aber nicht so vollständig wie Ammonsulphat (Huppert).

3. Säuren lösen das Bilirubin nicht und geben mit ihm keine Verbindungen.

---

[1]) Arch. E. Garrod, Journ. of Physiol. **17**. 441. 1895; The Journal of Pathology and Bacteriology **3**. 105. 1896.

[2]) W. Camerer, Zeitschr. f. Biol. **35**. 212. 1897. — Méhu, Journ. de pharmacie et de chimie [4] **28**. 164. 1878.

4. Es entsteht nach Haycraft und Scofield durch Reduction (durch Schwefelammon, in faulendem Harn) aus Biliverdin und Bilicyanin. Bei der alkalischen Harngährung kann es aber aus dem Harn verschwinden (Salkowski[1]) und ebenso, wenn icterischer Harn unter Zusatz von Chloroform aufbewahrt wird. (Huppert).

5. Das Spectrum des Bilirubins zeigt keinen Absorptionsstreifen.

Die Absorption nimmt nach Vierordt[2]) vom äussersten Roth gegen das violette Ende ununterbrochen zu; besonders schnell erfolgt diese Zunahme in E 26 F — E 45 F und zwischen G 35 H und G 60 H ist sie 573 mal so stark als in A. Das Bilirubin absorbirt das Licht stärker als einer der anderen Gallenfarbstoffe.

Die Absorptionsstreifen der Galle gehören keinem der gewöhnlichen Gallenfarbstoffe, sondern dem Cholecyanin an.

6. In alkalischer Lösung verwandelt sich das Bilirubin unter Absorption von Sauerstoff leicht in einen bläulichgrünen, gewöhnlich als Biliverdin bezeichneten Farbstoff (Gmelin). In gleicher Weise wird das Bilirubin bei der Digestion mit Alkohol, namentlich mit Aether, oxydirt, sowie nach Thudichum auch durch Fehling'sche Flüssigkeit. Bei der Digestion mit ammoniakalischer Chlorzinklösung an der Luft geht es in Cholecyanin über (Stokvis). Quecksilberchlorid führt das Bilirubin nach Ad. Schmidt[3]) in Biliverdin über.

7. Mit Brom giebt das Bilirubin farbige Substitutionsprodukte; auch Chlor substituirt Wasserstoff in ihm (Thudichum, Maly[4]).

8. Eine Bilirubinlösung färbt sich bei allmählichem Zufügen von salpetrige Säure enthaltender Salpetersäure erst grün, dann blau, dann violett, dann roth und zwar alles dieses bei hinreichender Säuremenge innerhalb weniger Secunden. Hierauf tritt in einigen Stunden oder, bei grösserem Säureüberschuss, in einigen Minuten Zerstörung der rothen Farbe ein, worauf die Flüssigkeit gelb erscheint (L. Gmelin).

Giesst man die Bilirubinlösung auf die Salpetersäure, ohne dass sich die Flüssigkeiten mischen, so zeigen sich diese Farben gleichzeitig schichtenweise über einander, die grüne Schicht zu oberst. Bei dieser Oxydation entstehen nach dem als Biliverdin betrachteten Farbstoff wesentlich Cholecyanin und Choletelin. — Reine Salpetersäure giebt mit einer Lösung des reinen Farbstoffes diese Reaction nicht.

Durch Chlor lässt sich eine ähnliche Farbenveränderung bewerkstelligen, wie durch die Salpetersäure, jedoch sind die Farben bei Weitem weniger lebhaft; die grüne Färbung geht, ohne erst ein deutliches Blau zu zeigen, in die blassrothe

---

1) J. B. Haycraft und H. Scofield, Centralbl. f. Physiologie 1889. 222; Zeitschr. f. physiol. Chemie **14**. 173. 1889. — Salkowski, Zeitschr. f. physiol. Chemie **12**. 227. 1888.

2) C. Vierodt, Zeitschr. f. Biologie **10**. 42 u. 52. 1874.

3) F. Tiedemann u. L. Gmelin, Die Verdauung nach Versuchen. Leipzig u. Heidelberg 1826. **1**. 80. — Stokvis, Centralbl. f. d. med. Wiss. 1872. 784. — Ad. Schmidt, Verhandlungen des XIII. Congresses für innere Med. 1895. 320.

4) Thudichum, Journ. of the chem. Soc. [2] **13**. 389. 1875; Ann. d. Ch. **181**. 242. — Maly, Ann. d. Chemie **181**. 106. 1876.

über und etwas mehr Chlor bewirkt gänzliche Entfärbung nebst weisser Trübung (Gmelin). — Eine Lösung von Bilirubin zeigt auf Zusatz von Brom oder Jod denselben Farbenwechsel, wie er durch Salpetersäure hervorgerufen wird (Maly[1]); es bilden sich dabei Brom- (Jod-) Substitutionsprodukte.

Eine Lösung von Gallenfarbstoff in Alkohol, Aether oder Chloroform wird nach Capranica[2]) auf vorsichtigen Zusatz einer schwachen alkoholischen Bromlösung nach einander grün, indigoblau, violett, gelbroth und endlich farblos. Der grüne Stoff zeigt keinen Absorptionsstreifen, der blaue und der violette dagegen einen Streifen in Roth, der gelbrothe einen Streifen in Blau. Schüttelt man die ätherische Lösung, wenn sie grün oder blau geworden ist, mit Salzsäure, so nimmt diese den grünen Farbstoff auf. Die Grünfärbung ist noch wahrnehmbar, wenn der ursprüngliche Farbstoffgehalt nicht mehr als 1 : 200000 beträgt. Aus der violetten Lösung nimmt Salzsäure Nichts auf. Concentrirte wässrige Lösungen von Chlorsäure oder Jodsäure ergeben dasselbe Resultat.

Eine Lösung von Bilirubin in Chloroform wird nach Capranica bei Abschluss von Luft im Lichte grün. Durchleiten von Sauerstoff hat auf die Farbenwandlung ebenso wenig Einfluss wie Durchleiten von Stickstoff, Wasserstoff, Kohlensäure oder Kohlenoxyd. Schwefelwasserstoff verhindert das Grünwerden der Bilirubinlösung im Licht.

Der bei der Einwirkung der Salpetersäure auf Bilirubin entstehende grüne Farbstoff zeigt nach Bogomoloff[3]) in alkoholischer Lösung keinen Absorptionsstreifen; auf weiteren Zusatz von rauchender Salpetersäure treten mit fortschreitender Farbenveränderung Streifen auf, von denen jedoch dahingestellt bleibt, ob sie ihren Ursprung dem Gallenfarbstoff oder den bei der Einwirkung der Salpetersäure auf den Alkohol entstehenden farbigen Lösungen verdanken.

9. Permanganat in saurer Lösung zerstört das Bilirubin und die übrigen Gallenfarbstoffe vollständig.

Von dieser Eigenschaft macht Modigliano[4]) Gebrauch zum Entfärben icterischen Harns, um ihn für weitere Untersuchungen tauglich zu machen. Der Harn wird auf 1 cc mit 2 Tropfen Salpetersäure oder Salzsäure (1,2 Dichte) und 2 Tropfen einer 4 proc. Permanganatlösung erwärmt oder einige Minuten geschüttelt.

10. Versetzt man nach Ehrlich[5]) eine Lösung von Bilirubin in Chloroform mit 1—2 Vol. stark salzsäurehaltiger, 0,1 proc. Diazobenzolsulfosäurelösung und mit soviel Alkohol, dass die Mischung homogen wird, so verändert die Lösung innerhalb einer Minute ihre gelbe Farbe in Roth. Auf tropfenweisen Zusatz von conc. Salzsäure geht die Färbung durch Violett und Blauviolett in intensives prachtvolles Reinblau über, das unbegrenzte Zeit haltbar ist. Die stark saure Lösung ist rein blau, die stark alkalische grünblau, die neutrale oder schwach saure oder schwach alkalische roth. Das Produkt besitzt also verschiedene Färbung, ähnlich, aber nicht gleich dem Cholecyanin (B. e. 4). Lässt man zur blauen Lösung vorsichtig Kalilauge fliessen, so ist eine untere grünblaue Zone von einer oberen rein blauen durch einen schmalen rothen Streifen getrennt. Chloroform entzieht der blauen Lösung den Farbstoff theilweise mit grüner, der neutralen mit rother Färbung. Aether nimmt aus wässrigen Lösungen fast Nichts auf. — Versetzt man stark icterischen Harn mit der Diazobenzolsulfosäurelösung und stark mit HCl,

---

[1]) Maly, Chem. Centralbl. 1868. 487; Ann. d. Chemie **181**. 108.

[2]) Capranica, Moleschott's Unters. **13**. 190; Zeitschr. f. analyt. Ch. **22**. 626; Jahresb. f. Thierch. 1882. 302. — Gaz. chim. ital. **11**. 430; Jahresber. f. Thierch. 1881. 312. — Arch. ital. de Biologie **1**. 84; Virchow-Hirsch's Jahresber. 1882. **1**. 122.

[3]) Th. Bogomoloff, Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1869. 530.

[4]) Modigliano, Lo sperimentale; Chem. Centralbl. 1889. **1**. 393.

[5]) Ehrlich, Centralbl. f. klin. Med. **4**. 721. 1883.

und lässt ihn, mit Steinsalz gesättigt, mehrere Tage stehen, so lässt sich das Produkt leicht abfiltriren und mit Salzlauge waschen.

Biliverdin, Biliprasin, Bilifuscin und Urobilin geben diese Reaction nicht.

Die saure blaue Lösung zeigt nach Krukenberg[1]) ein breites Band auf D, die annähernd neutrale violette Lösung eine von D bis F reichende Absorption. Im Spectrum der stark alkalischen grünen Lösung ist die linke Seite bis zur Mitte zwischen D und E absorbirt und das Roth nur schwach sichtbar.

11. Durch Natriumamalgam wird das Bilirubin zu Hydrobilirubin reducirt (Maly[2]) und durch Koth- (Fäulniss-) Bakterien zu Urobilin (S. 514).

Nach der Schilderung, welche Maly von den Eigenschaften seines Hydrobilirubins giebt, gleicht es dem Urobilin so sehr, dass man beide Körper für identisch halten könnte. Maly schreibt dem Hydrobilirubin die Formel $C_{32}H_{40}N_4O_7$ zu. Gegen die Identität beider Farbstoffe sind aber von verschiedenen Seiten Zweifel erhoben worden, deren Erledigung darum mit Schwierigkeiten verbunden ist, weil man bei wiederholter Darstellung nicht immer das gleiche Produkt erhält. Die Reduction kann entweder nicht vollendet sein, und man erhält dann Substanzen, welche noch Absorptionsstreifen im Roth und im Anfangstheil des Grün darbieten, oder die Lösung wird völlig entfärbt (Disqué, Le Nobel, Eichholz). Nach Gerhardt[3]) lässt sich der fremde Farbstoff durch Fällen mit Baryt beseitigen. — Das Hydrobilirubin mit dem einfachen Absorptionsstreifen des Urobilins unterscheidet sich von dem ihm sonst sehr ähnlichen Choletelin durch ein anderes Absorptionsverhältniss in verschiedenen Spectralregionen.

Wiederholt ist die Beobachtung gemacht worden, dass das farblose Reductionsprodukt des Urobilins aus Harn (Urobilinweiss) beim Stehen an der Luft wieder zu Urobilin wird, das Hydrobilirubin mit den überzähligen Absorptionsstreifen unter denselben Umständen wieder zu demselben Hydrobilirubin.

b. Biliverdin $C_{32}H_{36}N_4O_8$.

1. Das Biliverdin ist amorph, schwarzgrün, löst sich nicht in Wasser, in Aether und in Chloroform, aber in Aethyl- und in Methylalkohol mit blaugrüner Farbe, welche durch eine Spur Säure feurig grün wird.

2. In ätzenden und kohlensauren Alkalien löst es sich mit saftgrüner bis braungrüner Farbe, wodurch es sich vom gleichfalls grünen Biliprasin unterscheidet, dessen Alkalisalze braun sind. Die Verbindungen des Biliverdins mit den alkalischen Erden und den Oxyden schwerer Metalle (Blei, Silber, Quecksilber, Kupfer) sind unlöslich.

3. Es löst sich in concentrirter Essigsäure und in Salzsäure.

4. Ein Biliverdin, welches Vierordt[4]) photometrisch untersuchte, zeigte in alkalischer Lösung keine Absorptionsstreifen.

Die Absorption nahm vom rothen zum violetten Ende ununterbrochen zu. Die alkoholische schwach angesäuerte Lösung von rein grünem Farbenton wies auch

---

[1]) Krukenberg, Chem. Untersuchungen 1. 1886. 77.

[2]) Maly, Ann. d. Chem. u. Pharm. **161**. 368. 1872; **163**. 77; Centralbl. f. d. med. Wiss. 1871. 849.

[3]) Disqué, Zeitschr. f. physiol. Chem. **2**. 259. 1878. — Le Nobel, Pflüger's Archiv **40**. 517.1887. — A. Eichholz, Journ. of Physiol. **14**. 334. 1893. — D. Gerhardt, Ueber Hydrobilinurie, Diss., Berlin 1889. 15.

[4]) Vierodt, Zeitschr. f. Biologie **10**. 45.

diese Zunahme der Absorption auf mit einer unbedeutenden Abnahme im Grün zwischen C 65 D und D 87 E; ausserdem zeigte sie ein besonders rechts schlecht begrenztes Absorptionsband in Roth (zwischen a und C 15 D).

5. Mit Salpetersäure giebt das Biliverdin dieselbe Farbenveränderung wie das Bilirubin. Brom substituirt nach Thudichum in ihm Wasserstoff unter Bildung einer gleichfalls grünen Verbindung. Durch Natriumamalgam wird es nach Maly zu Hydrobilirubin, nach Thudichum zu einem diesem ähnlichen Körper, durch die Fäulniss oder Schwefelammon nach Haycraft und Scofield[1]) zu Bilirubin reducirt.

Zink und Salzsäure reducirt nach Jolles[2]) auch das grüne, durch Salpetersäure erhaltene Oxydationsprodukt des Bilirubins.

c. Biliprasin $C_{32}H_{44}N_4O_{12}$.

1. Das Biliprasin ist amorph, grünlich schwarz. Es ist in Wasser, Aether und Chloroform unlöslich. Alkohol löst es mit rein grüner Farbe, die auf Zusatz von Ammoniak in Braun übergeht. (Unterschied von Biliverdin).

2. In Alkalien löst sich das Biliprasin leicht auf, schwieriger in kohlensauren Alkalien. Die verdünnten Lösungen haben dieselbe Farbe wie stark pigmentirter icterischer Harn. (Auf Zusatz einer Säure geht die braune Farbe wieder in eine grüne über. Unterschied von Bilifuscin.)

3. Die alkoholische Lösung zeigt nach Mac Munn[3]) keine Absorptionsstreifen, die alkalische (in Natron) dagegen, wie Bilifuscin, ein Band zwischen C und D.

4. Eine weingeistige Lösung von Biliprasin zeigt mit Salpetersäure dieselbe Reaction wie Bilirubin und Biliverdin, nur das Blau ist sehr zurücktretend und undeutlich. Auf diese Reaction ist jedoch Nichts zu geben, weil man die gleichen Farben auch mit Alkohol allein erhält.

d. Bilifuscin $C_{32}H_{40}N_4O_8$.

1. Dasselbe ist gepulvert dunkelbraun, löst sich nicht in Wasser, in Aether und in Chloroform, oder nur spurenweise, löst sich aber bei Gegenwart fetter Säuren in Aether und in Chloroform. Mit Weingeist giebt es leicht eine tief braune Lösung, welche in starker Verdünnung die Farbe stark pigmentirten icterischen Harns besitzt. Auf Zusatz von etwas Salzsäure ändert sich die Färbung nicht, durch Alkalien wird sie lebhafter, mehr röthlich braun.

2. In Ammoniak und in natronhaltigem Wasser löst sich das Bilifuscin leicht mit tiefbrauner Farbe. Chlorcalcium fällt aus der Lösung dunkelbraune Flocken.

3. Spectroskopisch verhält sich das Bilifuscin wie das Biliprasin.

e. Cholecyanin (Bilicyanin, Choleverdin).

Bei der Oxydation der Gallenfarbstoffe mit Salpetersäure, Bleisuperoxyd, übermangansaurem Kali, atmosphärischem Sauerstoff bei Gegenwart von Chlorzink in alkalischer Lösung etc. treten nach den Untersuchungen von Jaffé, Fuda-

---

1) Thudichum, Journ. of the chem. Soc. [2] **14**. 935. 1876. — J. B. Haycraft u. H. Scofield, a. a. O.
2) A. Jolles, Pflüger's Archiv **61**. 627. 1895.
3) Mac Munn, Proc. Roy. Soc. **35**; Jahresber. f. Thierch. 1883. 320.

kowski, Stokvis, sowie Heynsius und Campbell[1]) die zwei Absorptionsstreifen α und β des unten abgebildeten 1. Spectrums auf: bei weiterer Oxydation gesellt sich ihnen ein dritter, γ, mit γ des Choletelins identischer, hinzu. Es hat den Anschein, als ob γ von gebildetem Choletelin herrührt, während nur α und β einem besonderen Farbstoff, dem Cholecyanin, angehören; doch lässt sich vor der Hand kein sicheres Urtheil gewinnen.

1. Das Cholecyanin löst sich nicht in Wasser, schwer in Alkohol, Amylalkohol, Chloroform, Aether, leicht dagegen in Alkalien und starken Säuren.

2. Nach Zusatz von Alkali ist das Cholecyanin sehr leicht löslich in Wasser und in Alkohol, aber unlöslich in Aether, Chloroform und in Amylalkohol, nach Zusatz von Säuren dagegen löst es sich nur sehr wenig in Wasser, mit der grössten Leichtigkeit aber in Alkohol, Amylalkohol, Aether und Chloroform. Durch Bleizucker wird es nicht gefällt. Aus der sauren alkoholischen Auflösung wird das Cholecyanin durch Neutralisiren und Zusatz von viel Wasser niedergeschlagen.

3. Unter reducirenden Einflüssen (durch Schwefelammon, in faulendem Harn) wird es nach Haycraft und Scofield in Bilirubin verwandelt. Auch durch Zink und Salzsäure wird es nach Jolles reducirt.

4. Die neutralen oder äusserst schwach sauren Lösungen des Cholecyanins sind blaugrün oder stahlblau und besitzen eine prachtvoll rothe Fluorescenz. — Die alkalischen Lösungen sind grün und fluoresciren nur unbedeutend. — Die Lösungen in sehr verdünnten Säuren sind schön roth und die stark sauren Lösungen violettblau.

5. Das Cholecyanin besitzt ein ausgezeichnetes Spectrum.

In neutraler Lösung zeigt das Absorptionsspectrum des Cholecyanins drei schmale Streifen, von welchen α und γ dunkel sind, β heller ist; α deckt mit seinem rechten Rande C, β ebenso D, während γ die Mitte zwischen D und E einnimmt. Der Streifen α ist so dunkel, wie der im Roth gelegene Streifen des Hämatins in saurer Lösung, wie denn beide Spectren einander sehr ähnlich sind. — In saurer Lösung liegen α und β links und rechts von D, nahe bei dieser Linie, und besitzen die ursprüngliche Breite, während γ die Lage von γ des Choletelins einnimmt und mit dem rechten Rand F ein wenig überschreitet (Spectrum 1 in Fig. 10. Seite 545). — In alkalischer Lösung sind α und β nach rechts, γ nach links gerückt; α deckt jetzt mit seinem linken Rande C, β wird nahezu in der Mitte von D geschnitten und γ nimmt denselben Ort ein wie δ des Choletelins (Spectrum 2).

---

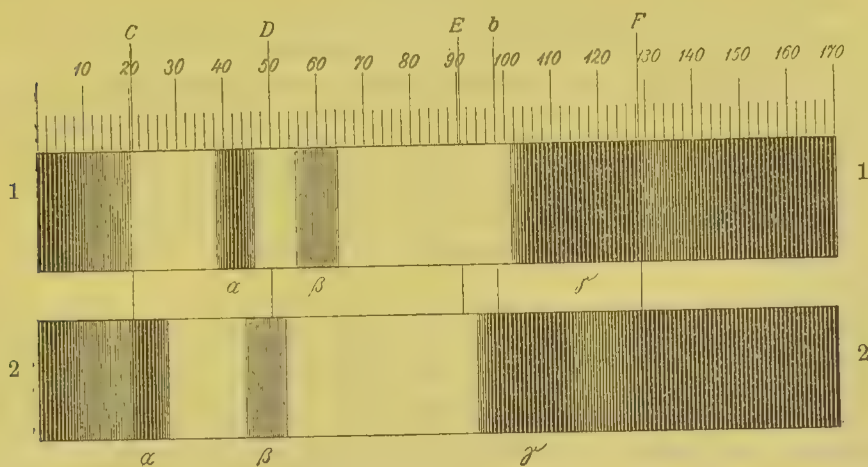
1) Jaffé, Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1868. 241. — Fudakowski, Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1869. 129. — Stokvis, Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1872. 784; Maandblad voor Natuurwetensch. 3. No. 1. — Heynsius u. Campbell, Pflüger's Archiv 4. 520. 1871.

f. Choletelin ($C_{15}H_{18}N_2O_6$?).

1. Das (mit Salpetersäure aus Bilirubin dargestellte) Choletelin bildet einen braunen amorphen Körper, der sich mit rubinrother Farbe leicht in Alkohol und wenig in Chloroform, dagegen nicht in Aether löst. Die verdünnten Lösungen desselben besitzen nicht, wie das Urobilin, eine rosenrothe, sondern eine gelbrothe Färbung, die sich weder auf Zusatz von Säuren noch von Alkalien ändert, während das beim Urobilin der Fall ist. Die Lösungen fluoresciren nicht. Wasser schlägt es aus seiner alkoholischen Lösung nieder.

Ein Choletelin, welches Stockvis durch Behandeln einer neutralen alkoholischen Cholecyaninlösung mit Chlorzink und Jodtinctur oder beim Kochen derselben mit wenig Bleisuperoxyd erhielt, war in verdünnter Lösung oder in dünner Schicht rosenroth, fluorescirte auch ohne Chlorzink prachtvoll grün und ging aus der alkoholischen (!) Lösung leicht in Aether und in Chloroform über; die rothgelbe

Fig. 10.



Spectren des Bilicyanins, 1. in saurer, 2. in alkalischer Lösung, nach Heynsius und Campbell.

oder rothe Färbung seiner Lösung in säurehaltigem Alkohol wurde beim Uebersättigen mit Alkali hellgelb. Der Farbstoff verhielt sich also ganz wie Urobilin. Auch Fr. Müller[1]) erhielt beim Behandeln von reinem Bilirubin erst mit Jod und dann mit Salpetersäure einen Farbstoff, der mit dem Urobilin die grösste Aehnlichkeit besass. Vom Hydrobilirubin (Urobilin) unterscheidet sich aber das Choletelin durch sein Absorptionsverhältniss (S. 546).

2. Es löst sich in kohlensauren und in ätzenden Alkalien, auch in Ammoniak, mit brauner Farbe; Säuren fällen es aus den alkalischen Lösungen; Bleizucker fällt es nicht. Zusatz eines Zinksalzes zu der alkalischen Lösung ruft keine Fluorescenz hervor. Mineralsäuren

1) B. J. Stokvis, Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1873. 211 u. 449. — Fr. Müller, Siebzigster Jahres-Bericht der schlesischen Gesellsch. f. vaterl. Cultur, 1892, med. Abtheilung, 2.

lösen es nicht, wohl aber Essigsäure. Dagegen löst es sich in Neutralsalzlösungen.

3. Das Choletelin zeigt ein verschiedenes spectrales Verhalten, je nachdem es durch Oxydation von Gallenfarbstoff in saurer oder in neutraler Lösung erhalten worden ist.

Von dem mit Salpetersäure dargestellten Choletelin absorbirt eine neutrale alkoholische Lösung das äusserste Roth des Spectrums am Wenigsten, das äusserste Violett am Stärksten; die Absorption nimmt vom Roth zum Violett ohne Unterbrechung zu, Absorptionsbänder fehlen (Vierordt). Die alkoholische saure Lösung zeigt einen Absorptionsstreifen (γ) zwischen b und F (Jaffé), er tritt sofort auf Zusatz von Essigsäure oder einer Mineralsäure zur alkoholischen Lösung auf. Derselbe Streifen ist auch in der essigsauren Lösung von vornherein vorhanden und kommt auch auf Zusatz einer Säure zu der Lösung des Choletelins in Neutralsalzen zum Vorschein. Der Streifen nimmt nach Heynsius und Campbell[1]) genau dieselbe Lage ein, wie der Streifen γ des Bilicyanins in saurer Lösung (Fig. 10. S. 545). Die Lösung des Choletelins in Alkalien oder die mit Alkali versetzte alkoholische Lösung zeigt, wenigstens anfangs, keinen Streifen; aber mindestens auf Zusatz von Chlorzink zu diesen Lösungen oder von etwas Jodtinctur zur alkoholischen Lösung erscheint ein Streifen δ, der an derselben Stelle liegt wie γ der alkalischen Bilicyaninlösung.

Beide Streifen haben dieselbe Lage, wie die des Urobilins. Die Aehnlichkeit zwischen beiden Farbstoffen wird aber noch grösser, insofern als das durch Oxydation in neutraler Lösung dargestellte (f. 1.) Choletelin nach Stokvis[2]) auch in neutraler Lösung den Streifen mit ausgezeichneter Schärfe darbietet. Vom Hydrobilirubin ist das Choletelin jedoch bestimmt verschieden; setzt man das Licht-Absorptionsverhältniss des Hydrobilirubins = 1, so beträgt das des Choletelins in den verschiedenen Spectralbezirken nach Vierordt's Messungen (§ 56, E) 1,43—13,14.

Nach dem Abdampfen einer neutralen Lösung löst sich der gelbe Rückstand in Alkohol, die neue Lösung zeigt aber weder auf Zusatz einer Säure, noch auf Zusatz von Alkalien, Chlorzink oder Jodtinctur einen Absorptionsstreifen,

4. Die Niederschläge, welche Choletelin mit Metallsalzen giebt, sind nicht dunkelroth wie die des Hydrobilirubins. Durch salpetersaures Silber wird das Choletelin erst auf Zusatz von Ammoniak (in braunen Flocken) gefällt.

5. Schwefelwasserstoff sowie Zink und Salzsäure verändern das Choletelin nicht sichtlich; Natriumamalgam aber färbt seine Lösungen lichter und soll es in Hydrobilirubin überführen. Concentrirte Salpetersäure scheint es nicht wesentlich anzugreifen.

g. Der reducirbare Stoff von Stokvis[3]).

1. Derselbe entsteht als Nebenprodukt bei der vollständigen Oxydation der Gallenfarbstoffe. Er löst sich leicht in Wasser, Alkohol, Alkalien, in verdünnten Säuren farblos oder mit hellgelber Farbe, nicht in Aether und in Chloroform. Die Bleiacetate fällen ihn im Gegen-

---

[1]) Jaffé, Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1868. 241; Virchow's Archiv 47. 242. — Maly, Sitzungsber. d. k. Akad. d. Wissensch. zu Wien, 59. 2. Abth. 602. 1869. — Heynsius u. Campbell, Pflüger's Archiv 4. 535. 1871. — Vierordt, Ztschr. f. Biol. 10. 399. 1874.

[2]) B. J. Stokvis, Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1873. 211 u. 449.

[3]) Stokvis, Maandbl. voor Natuurwetensch. 2. 17; Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1872. 3.

satz zum Urobilinogen nicht. Bleiessig und Ammoniak schlagen ihn aber nieder; durch Behandeln des Bleiniederschlags unter Alkohol mit Schwefelwasserstoff kann er wieder gewonnen werden. In alkalischer Lösung verliert er schnell die Reductionsfähigkeit, in schwach sauren Lösungen ist er viel beständiger.

2. Er ist ausgezeichnet dadurch, dass seine alkalische Lösung beim Kochen mit reducirenden Substanzen (Schwefelammon, Zinn etc.) schön rosenroth wird, und dann einen Absorptionsschatten in Grün zwischen D und b zeigt, der beim Verdünnen der Lösung nur bis E reicht und vom rothen Ende her immer mehr verschwindet. Schütteln der Lösung mit Luft beseitigt den Schatten und die Rosafarbe wieder.

C. *Nachweis.* Icterischer Harn ist gelb, braun, grün, sein Schaum gelb, während der Schaum dunkler, aber gallenfarbstofffreier Harne weiss ist; nur bei stark urobilinhaltigem Harn kann der Schaum gleichfalls gelb sein. Beim Filtriren hinterlässt er auf dem Filter einen gelben Belag. Dieses Verhalten genügt jedoch nicht zum sicheren Nachweis des Gallenfarbstoffes, es ist dazu noch eine besondere Untersuchung des Harns erforderlich.

I. Nachweis im Harn direkt.

1. Die von Tiedemann und Gmelin[1]) für den Nachweis des Gallenfarbstoffs als die sicherste empfohlene Probe ist es für die gewöhnlichen Fälle auch heute noch (B. a. 6). Beweisend für die Gegenwart des Gallenfarbstoffs ist nur das Auftreten der grünen Färbung, da andere auch im normalen Harn vorkommende Substanzen (Indican) Blau und Roth geben; auch ist es gleichgiltig, ob ausser dem Grün noch andere Farben wahrgenommen werden. — Alkoholische Lösungen der Gallenfarbstoffe dürfen der Probe nicht unterworfen werden, weil der Alkohol allein eine ganz ähnliche und zwar sehr schöne Farbenprobe giebt (Huppert). Man stellt die Probe am Besten in folgender Weise an.

Man giesst in ein Reagensglas einige Cubikcentimeter schwach gelbe Salpetersäure und auf diese, ohne dass sich die Flüssigkeiten mischen, einige Cubikcentimeter von dem Harn, der auf Gallenfarbstoff untersucht werden soll. Das lässt sich entweder in der Weise bewirken, dass man das Reagensglas mit der Salpetersäure möglichst schief hält und den Harn nun auf die Salpetersäure fliessen lässt, oder indem man den Harn aus einer Pipette, welche man bis an die Oberfläche der Säure in das Reagensglas einführt, vorsichtig zufliessen lässt.

Urobilinreiche icterische Harne geben die Gmelin'sche Reaction schlecht; man kann dann, wenn man nicht vorzieht den Farbstoff nach C. II zu isoliren, die Probe mit dem verdünnten Harn wiederholen. Die Verdünnung (bis auf 1,005 oder noch darunter) wird nach Zeehuisen von Stokvis überhaupt empfohlen weil dann blos die Grünfärbung auftritt und das Braun vollständig fehlt. Von

---

[1]) Tiedemann u. Gmelin, a. a. O. 81.

Vortheil fand Grimm[1]) in solchen Fällen den Harn zur Entfernung des Urobilins vorher mit Aether auszuschütteln; der Aether muss aber ganz alkoholfrei sein, weil Alkohol mit der Salpetersäure eine der Gmelin'schen ganz ähnliche Farbenreaction giebt.

Die Gegenwart von Eiweiss beeinträchtigt die Gmelin'sche Reaction zwar in gallenfarbstoffreichen Harnen nicht, in welchen das Grün in dem Eiweissniederschlag deutlich hervortritt; aber kleine Mengen Gallenfarbstoff sind nicht mehr sicher nachweisbar und über die Abwesenheit des Gallenfarbstoffs erlangt man keine Gewissheit, weil in eiweisshaltigem Harn über dem rothen Ring, wo der grüne liegen müsste, ein grauer entsteht, der einen schwachen grünen Ring verdeckt (Steiner). Es muss daher das Eiweiss vorher entfernt werden. Dies geschieht entweder durch Coagulation (§ 43. I. D. 1; S. 441) oder nach Heller[2]) durch Fällen desselben mit concentrirter Salzsäure (§ 43. I. B. 7. e; S. 431). Geringe Mengen Gallenfarbstoff können aber völlig mit dem Albumin niedergeschlagen werden; es ist dann der Niederschlag zu trocknen und mit Chloroform auszuziehen.

Süss[3]) macht die Angabe, dass auch normaler Harn nach dem Gebrauch von Antipyrin beim Schichten auf Salpetersäure einen schwachen grünlichen Ring zeigt, aber ohne die anderen Farben.

Von der Gmelin'schen Probe sind noch einige Modificationen in Vorschlag gebracht worden.

a. Rosenbach empfiehlt den Harn zu filtriren und das Filter entweder noch feucht oder, wenn es trocken geworden ist, nach dem Anfeuchten mit Wasser mit einem Tropfen Salpetersäure zu betupfen. Es bildet sich dann ein Farbenring, der von innen nach aussen gelbroth, violett, blau, grün erscheint. Die Farben halten sich eine Zeit lang. — Dragendorff[4]) lässt einige Tropfen Harn in eine poröse Thonplatte eindringen und benetzt den Fleck mit Salpetersäure.

b. Fleischl[5]) versetzt den Harn mit einer concentrirten Lösung von salpetersaurem Natron und bringt dann (mit einer Pipette) concentrirte Schwefelsäure auf den Boden des Reagensglases, wonach die Reaction langsamer als in der gewöhnlichen Probe verlaufen soll.

c. Nach Vitali[6]) nimmt icterischer Harn, wenn er mit einem Tropfen einer Lösung von Kaliumnitrit und etwas verdünnter Schwefelsäure versetzt wird, eine schön grüne Farbe an, selbst dann, wenn im Harn nur Spuren von Gallenfarbstoff enthalten sind. Nach einiger Zeit verschwindet das Grün und geht sogleich in Gelb über, ohne vorher Roth oder Blau zu durchlaufen. — Klehbiel versetzt den Harn mit 1/4 Vol. Salzsäure und dann tropfenweise mit salpetriger Säure (salpetrigsaurem Salz); der Harn wird zunächst grün und zeigt dann die anderen Farben. — Masset[7]) wendet statt der Nitritlösung festes Salz an und fügt es dem Harn nach der Schwefelsäure zu. Die grüne Färbung soll auch beim Kochen bestehen bleiben und sich mehrere Tage unverändert halten.

---

1) H. Zeehuisen, Ztschr. f. klin. Med. **27**. 189. 1895. — F. Grimm, Virchow's Archiv **132**. 265. 1893.
2) J. Steiner, Archiv. f. Anat. 1873. 178. — Heller, dessen Archiv **4**. 305. 1847.
3) Süss, Pharm. Centralhalle **35**. 741; Chem. Centralbl. 1895. **1**. 292.
4) O. Rosenbach, Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1876. 5. — Dragendorff, Ztschr. f. analyt. Ch. **25**. 459.
5) E. Fleischl, Centralbl. f. d. medic. Wissensch. 1875. 561; Ztschr. f. analyt. Ch. **15**. 502.
6) Vitali, Jahresber. f. Thierchemie 1873. 149.
7) G. A. A. Klehbiel, Wiener med. Wochenschr. 1883. 10, — Masset, Chem. Centralbl. 1879. 585; Ztschr. f. analyt. Ch. **19**. 255.

d. Rosenbach setzt dem Harn tropfenweise unter stetem Schütteln eine 5 proc. Chromsäurelösung zu; je stärker der Gallenfarbstoffgehalt, desto vorsichtiger soll der Chromsäurezusatz erfolgen. Bei Gegenwart von Gallenfarbstoff wird der Harn blos grün; ein Ueberschuss an Reagens ertheilt dem Harn eine braune Farbe. — Betupft man ein Filter, durch welches icterischer Harn filtrirt war, so tritt ein grüner Fleck auf. Diese Probe hat das Bedenken, dass die Chromsäure durch viele Substanzen, auch durch Papier, zu (grünem) Chromoxyd reducirt wird. Nach Zeehuisen[1]) ist sie wenig empfindlich.

e. Bei der von Ultzmann[2]) angegebenen Probe wird das Bilirubin in alkalischer Lösung durch den atmosphärischen Sauerstoff oxydirt. Es werden 10 cc Harn mit 3—4 cc einer Kalilauge geschüttelt, welche 1 Theil Kaliumhydrat auf 3 Theile Wasser enthält, dann die Mischung mit Salzsäure übersättigt, worauf die Flüssigkeit schön smaragdgrün erscheint, wenn der Harn Gallenfarbstoff enthält. Zum Gelingen der Probe ist unbedingt erforderlich, dass die Kalilauge die angegebene Concentration besitzt.

f. Auf einen analogen Vorgang stützt sich die Beobachtung von Donné[3]) nach welchem sich Aether, der mit icterischem Harn geschüttelt wird, mehr oder minder grünlich gelb färbt, während normaler Harn den Aether ungefärbt lässt.

3. Von Trousseau und Dumontpallier, von E. Maréchal, von W. G. Smith und von Kathrein[4]) wird Jodtinctur zum Nachweis des Gallenfarbstoffs im Harn empfohlen. Auf Zusatz einiger Tropfen Jodtinctur färbt sich icterischer Harn selbst bei starker Verdünnung noch schön smaragdgrün; lässt man die Jodtinctur vorsichtig auf den Harn fliessen, so färbt sich die Grenzschicht schön grün (B. a. 7.).

Rosin[5]), welcher diese Schichtproben auf's Neue empfiehlt, verwendet dazu officinelle Jodtinktur, welche mit Alkohol auf das 10 fache verdünnt ist. Der entstehende grüne Ring hält sich stundenlang, selbst da, wo die Gmelin'sche Probe versagt. Normaler Harn zeigt eine hellgelbe oder farblose Schicht. Nach Zeehuisen ist die Probe jedoch nicht eindeutig, da auch viele normale Harne die grüne Schicht geben.

Bromwasser lässt sich ebenso verwenden. — Klehbiel oxydirt den Farbstoff des mit $1/4$ Vol. Salzsäure vermischten Harns durch tropfenweisen Zusatz von gesättigter Chlorkalklösung. Die Reaction fällt nicht so schön aus, wie die mit salpetriger Säure.

4. Die Cholecyaninprobe von Stokvis[6]). Wenn die Gmelin'sche Reaction unsicher ist, so soll man 20—30 cc Harn mit 5—10 cc einer 20 proc. Chlorzink- (oder nach Binnendijk Zinkacetat-)

---

[1]) O. Rosenbach, Deutsche med. Wochenschr. 17. 1892.; Chem. Centralbl. 1892. 2. 557. — H. Zeehuisen, a. a. O.

[2]) R. Ultzmann, Wiener med. Presse 32. 1877.

[3]) Donné, Comptes rendus 12. 956. 1881.

[4]) Trousseau u. Dumontpallier, L'Union méd. 39. 1863. — E. Maréchal, Ztschr. f. analyt. Ch. 8. 99. 1869. — W. G. Smith, Dublin Journal of med. Sciences 1876. 449. — Kathrein, Pharmac. Post 43. 1890; Chem. Centralbl. 1891. 1. 272.

[5]) H. Rosin, Berliner klin. Wochenschr. 1893. 106; Ztschr. f. analyt. Ch. 32. 515.

[6]) Stokvis, Nederl. Tijdschr. voor Geneesk., Festb. 1882. 118; Jahresb. f. Thierch. 1882. 226.

Lösung versetzen und die stark saure Reaction mit kohlensaurem Natron etwas abstumpfen; der entstandene voluminöse Niederschlag enthält allen Gallenfarbstoff. Man wäscht ihn auf dem Filter und löst ihn in starkem Ammoniak, wobei das Bilirubin mehr oder minder in Cholecyanin übergeführt wird. Die ammoniakalische Lösung zeigt, wenn Gallenfarbstoff vorhanden war, meistens Fluorescenz und immer die Cholecyaninstreifen (B. e. 4. u. 5.).

5. Mittelst der Diazobenzolsulfonsäure (B. a. 10.) kann man Gallenfarbstoff (Bilirubin) nach Ehrlich in der Weise auffinden, dass man den Harn erst mit 1 Vol. 30 proc. Essigsäure und darauf tropfenweise mit der 0,1 proc. Säurelösung versetzt. Bei Gegenwart von Bilirubin tritt eine Verdunkelung auf, und auf Zusatz von viel Eisessig, oder beim Kochen, eine Violettfärbung.

Das Reagens kann man sich in der Weise bereiten, dass man 1 g Sulfanilsäure (Para-Anilinsulfonsäure) in wässriger Lösung mit 15 cc Salzsäure und 0.1 g Natriumnitrit versetzt und die Lösung auf 1 l verdünnt.

6. In zweifelhaften Fällen kann man auch den reducirbaren Stoff (B. g.) aufsuchen, wobei der negative Ausfall der Probe sicher auf die Abwesenheit von Gallenfarbstoff schliessen lässt.

Man fällt nach Stokvis[1]) den Harn bei nativ saurer Reaction mit Bleizucker, wenn nöthig mit Bleiessig, entfernt das überschüssige Blei mit Oxalsäure und kocht das Filtrat mit überschüssigem Kali oder Natron. Zusatz einer reducirenden Substanz ist beim Harn nicht nöthig. Die Reaction ist gelungen, wenn die Flüssigkeit mehr oder minder orangeroth wird und vor dem Spectroskop den verwaschenen Schatten zwischen D und E zeigt.

7. Die Angabe von Paul und von Yvon, dass normaler Harn durch Methylanilin (Violet de Paris) violettblau, icterischer aber violettroth werden soll, ist von verschiedenen Seiten[2]) her widerlegt worden; es färbt sich jeder stark gefärbte Harn mit Methylanilin roth, weil das Blau des Violett durch das Gelb des Harns ausgelöscht wird.

II. Nachweis durch Isolirung des Gallenfarbstoffs.

Kleine Mengen Gallenfarbstoff lassen sich, namentlich in sehr dunklen oder an Indican reichen Harnen mit der Gmelin'schen Probe nicht mehr nachweisen; in indicanreichem Harn kann sogar nach Zusatz von Salpetersäure das Blau des Indigos mit dem Gelb des Harns Grün geben. In solchen und anderen zweifelhaften Fällen empfiehlt es sich, den Gallenfarbstoff aus dem Harn abzuscheiden. Dazu sind zwei Möglichkeiten vorhanden, das Fällen desselben als unlösliche Verbindung, oder die Extraction mit einem Lösungsmittel.

---

1) Stokvis, a. a. O. u. Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1872. 4.

2) C. Paul, Ztschr. f. analyt. Ch. **16**. 132. — Yvon, Bull. de thérap. **89**. 551. 1875; **90**. 73. 1876. — Demelle u. Longuet. Chem. Centralbl. 1876. 697; Zeitschr. f. analyt. Ch. **16**. 260. — A. Gubler, Gazette hebdomad. 21. 1876. — O. Rosenbach, Deutsche med. Wochenschr. 16. 1876.

1. Durch Fällung.

Dazu macht man den Harn mit kohlensaurem Natron oder Aetznatron alkalisch und versetzt ihn mit Chlorbaryum oder Chlorcalcium so lange er einen gefärbten Niederschlag giebt, oder fällt ihn gleich mit Kalkmilch (Huppert) oder Baryumhydrat (Hilger[1]) im Ueberschuss. Der Niederschlag aus icterischem Harn ist gelb, der aus normalem Harn weiss, der aus Chrysophansäure enthaltendem rosenroth. Kocht man den abfiltrirten Niederschlag mit Alkohol, welchem ein paar Tropfen verdünnte Schwefelsäure zugesetzt sind, so entfärbt sich der Niederschlag und man erhält eine schön grüne Lösung (aus Chrysophansäureharn eine orangegelbe, aus normalem eine farblose). Die Probe gelingt noch mit Harnen, welche trotz starker Färbung nur eine zweifelhafte Gmelin'sche Reaction geben.

Auch kann man den Niederschlag mit einer Lösung von kohlensaurem Natron erwärmen und die grüne oder braungrüne Lösung für die Gmelin'sche Reaction verwenden. — Aus dem neutralisirten Niederschlag lässt sich auch durch Chloroform Bilirubin ausziehen. — Beim Aufbewahren bleicht der Niederschlag, namentlich im Lichte.

Zu dem gedachten Zweck hat Schwertfeger zuerst das basisch essigsaure Blei vorgeschlagen; dasselbe ist aber dazu nicht geeignet, weil durch dasselbe auch die normalen Harnfarbstoffe niedergeschlagen werden. Scherer[2]) empfahl statt dessen die Fällung des Harns mit einem Barytsalze. Beide Methoden waren aber in Vergessenheit gerathen.

Jolles empfiehlt 50 cc Harn in einem Scheidetrichter mit einigen Tropfen Salzsäure zu versetzen, mit Chlorbaryum auszufällen und dann mit 5 cc Chloroform einige Minuten tüchtig zu schütteln. Wenn sich der Niederschlag (nach 10 Minuten) abgesetzt hat, lässt man ihn in ein Reagensglas fliessen, verdunstet das Chloroform durch Eintauchen des Glases in warmes Wasser und setzt dann vorsichtig Salpetersäure zu. — Zeehuisen[3]) filtrirt den Niederschlag ab und betupft das trocken gewordene Filter mit Salpetersäure; nach ihm leistet die Probe von Jolles nicht mehr als die Gmelin'sche.

Vitali[4]) scheidet den Gallenfarbstoff durch Schütteln mit viel Thonerdehydrat oder mit feuchtem Schwefelblei ab, oder in der Weise, dass er in dem Harn durch Kochen einen Eiweissniederschlag erzeugt. Die mit den farblosen Fällungsmitteln entstandenen Niederschläge sind gelb oder grün; man kann mit ihnen direkt die Gmelin'sche Reaction anstellen. Diese und das Schwefelblei kann man auch mit schwefelsäurehaltigem Alkohol kochen; bei Gegenwart von Gallenfarbstoff färbt sich der Alkohol grün. Man kann ihnen auch das Bilirubin mit Chloroform entziehen (vgl. 2.).

Durch Sättigen des Harns mit Ammonsulphat lässt sich zwar auch der Gallenfarbstoff abscheiden (Méhu[5]), der Niederschlag ist aber so unrein, dass sich ein auf diese Fällbarkeit gegründetes Verfahren zum Nachweis des Gallenfarbstoffs nicht besonders empfiehlt.

---

1) H. Huppert, Archiv d. Heilk. 8. 351. u. 476. — A. Hilger, Archiv d. Pharmacie [3] 6. 385.

2) Schwertfeger, Arch. d. Pharmacie 1848. — Scherer, Canstatt's Jahresber. 1845, pathol. Chem. 87.

3) A. Jolles, Ztschr. f. physiol. Ch. 18. 545. 1894; 20. 460. 1895. — H. Zeehuisen, Ztschr. f. klin. Med. 27. 189. 1895.

4) D. Vitali, L'Orosi 15. 42. — Atti della R. Academia delle Sc. di Bologna 1892; Ztschr f. analyt. Ch. 31. 725; Jahresb. f. Thierch. 1894. 676.

5) Méhu, Journ. de pharm. et de chimie [2] 28. 164. 1876.

2. Durch Extraction mit Chloroform.

Mittelst Chloroform lässt sich aus dem Harn der Gallenfarbstoff entweder direkt, oder aus dem Abdampfungsrückstand, oder aus einem den Farbstoff enthaltenden Niederschlag darstellen. Um nicht andere in Chloroform lösliche Farbstoffe mit dem Bilirubin zu verwechseln, empfiehlt es sich, mit dem Chloroformauszug noch Reactionen anzustellen.

a. Bei heftigem Schütteln mit dem Harn bildet das Chloroform aber eine Emulsion, in welcher die Chloroformtröpfchen nur sehr schwer wieder zusammenfliessen, und in einer solchen lässt sich wegen der Zwischenlagerung des gefärbten Harns nicht sicher erkennen, ob auch das Chloroform gefärbt ist. Ultzmann empfiehlt daher, 100 cc Harn mit 10 cc Chloroform in einem Fläschchen nur hin und her zu stürzen. Man verschliesst dann das Fläschchen mit dem Daumen, kehrt es um und lässt das Chloroform in ein Reagensglas ausfliessen. — Nach Neumeister[1]) soll man den Harn nach Zusatz von Essigsäure mit Chloroform und so viel Alkohol schütteln, dass sich das Chloroform vollständig löst und die Mischung darauf (in einem Scheidetrichter ohne stark zu schütteln), mit (2 Vol.) Wasser verdünnen. Das Chloroform, welches den Gallenfarbstoff aufgenommen hat, setzt sich in Form einer Emulsion ab. Man zerstört diese dadurch, dass man sie ablässt, mit Alkohol bis zur Lösung des Chloroforms versetzt, die Lösung von in ihr suspendirter flockiger Substanz abfiltrirt und das Chloroform wieder durch Zusatz von Wasser zur Abscheidung bringt. Es ist anfangs trüb, wird aber bald klar. Das Chloroform, mit welchem man normalen Harn behandelt hat, ist gelb, oder bräunlich gefärbt (von Urobilin), auch schön goldgelb, so dass aus der Farbe der Lösung allein nicht auf die Anwesenheit von Bilirubin geschlossen werden kann.

Fügt man einem solchen (gelben) Chloroformauszug aus icterischem Harn einige Tropfen Salpetersäure zu, so färbt er sich nach einander grün, blau, violett und schmutzig roth. Das Grün tritt dabei aber nur spurenweise auf und verschwindet schnell wieder. Ein beständiges Grün erhält man aber nach Gerhardt[2]), wenn man den Chloroformauszug mit (ozonhaltigem) Terpentinöl versetzt und die Mischung mit wenig verdünnter Kalilauge übergiesst; der Gallenfarbstoff verwandelt sich dabei alsbald in Biliverdin, welches von der übergeschichteten Kalilösung aufgenommen wird. — Man kann sich auch des folgenden gleichfalls von Gerhardt angegebenen Verfahrens bedienen, das aber grössere Vorsicht erheischt. Der Chloroformauszug wird mit einer geringen Menge sehr verdünnter (ganz hellgelber) Jod-Jodkaliumlösung geschüttelt; es darf nur so wenig Jod vorhanden sein, dass sich das Chloroform kaum roth färbt. Fügt man dann etwas Kalilauge zu, so entfärbt sich das Chloroform und die Lauge wird grün. Urobilin giebt diese Reaction nicht; dieses ist daran kenntlich, dass die Chloroformlösung nach dem Verdünnen mit Alkohol auf Zusatz einer Spur alkoholischer Chlorzinklösung eine schön grüne Fluorescenz annimmt (S. 520).

Nach Schwanda[3]) verdampft man den Harn im Wasserbade zur Trockne, zieht den Rückstand mit Wasser aus, filtrirt, wäscht aus, trocknet und zieht das in Stücke zerschnittene Filter in der Wärme wiederholt mit Chloroform aus. Die erhaltene goldgelbe Lösung prüft man direkt mit Salpetersäure oder Bromwasser auf Bilirubin.

---

1) R. Neumeister, Lehrbuch d. physiol. Ch. 2. 377. 1895.

2) C. Gerhardt, Sitzungsber. d. physik. med. Gesellsch. zu Würzburg 1881. 25.

3) Schwanda, Wiener med. Wochenschr. 38 u. 39. 1865; Ztschr. f. anal. Ch. 6. 501.

Vitali behandelt die den Gallenfarbstoff enthaltenden Niederschläge mit Chloroform und setzt Alkohol zu bis zur Lösung des Chloroform; beim Vermischen mit Wasser scheidet sich dann das bilirubinhaltige Chloroform ab.

Aus dem Kalkniederschlag lässt sich durch Ansäuern mit Salzsäure und Schütteln mit Chloroform Bilirubin gewinnen, das durch Verdunsten des Chloroforms krystallisiren kann (Vossius; Stadelmann[1]).

III. Zum Nachweis des in Uratsedimenten oder in durch Säuren erzeugten Harnsäureniederschlägen enthaltenen Gallenfarbstoffs löst man die Niederschläge in kohlensaurem Natron und prüft auf Bilirubin.

IV. Nachweis der einzelnen Gallenfarbstoffe.

a. Bilirubin lässt sich durch die Ehrlich'sche Diazoreaction (C. I. 5.) im Harn erkennen und mittelst Chloroform (C. II. 2.) isoliren.

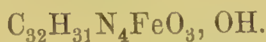
b. Im Harn enthaltenes Biliprasin giebt sich leicht dadurch zu erkennen, dass sich der Harn auf Zusatz einer Säure (Salzsäure) grün färbt, intensiver bei schwachem Erwärmen. Die Probe ist aber nur dann beweisend, worauf Karplus[2] aufmerksam macht, wenn der Harn frei ist von Nitriten, was bei Harnen, welche einige Zeit gestanden haben, selten der Fall ist. Auch ganz frische Harne können schon Nitrite enthalten.

c. Das Cholecyanin lässt sich nur auf spectralanalytischem Wege (B. e. 5.) im Harn nachweisen.

d. Der Nachweis des Choletelins kann gleichfalls nur mit dem Spectroskop geführt werden (B. f. 3.). Man sieht nach Heynsius[3] den Streifen γ nicht immer direkt im Harn, aber auf Zusatz von Säure kommt er zum Vorschein. Macht man den sauren Harn darauf mit Kali oder Natron alkalisch, so ist der Streifen δ gewöhnlich sogleich sichtbar, bisweilen ist aber noch der Zusatz von Chlorzink erforderlich, namentlich dann, wenn der Harn von Ammoniak alkalisch reagirt. — Man hat sich vor Verwechslungen des Choletelins mit dem Urobilin zu hüten. — Eine vorhergehende Fällung etwa gleichzeitig vorhandenen Gallenfarbstoffs mit Bleizucker dürfte sich empfehlen.

Eine äusserliche Aehnlichkeit mit icterischem Harn besitzt solcher welcher nach dem Gebrauch von Rheum, Senna und Santonin entleert wird (§ 46. 16.). Dieser Harn ist gelb oder grünlich gelb; er kann aber mit icterischem nicht verwechselt werden, weil er auf Zusatz von Alkalien roth wird und beim Ansäuern die ursprüngliche Farbe wieder annimmt.

V. Hämatin.



$C_{32}H_{31}N_4FeO_3, OH.$

A. *Vorkommen.* Das Hämatin scheint nicht gerade selten im Harn vorzukommen; ich selbst habe es spectroscopisch in einem Harn bei Schwefelsäurevergiftung nachgewiesen. Nach Lewin und Posner[4] bildet sich Hämatin beim Erwärmen bluthaltigen Harns auf ungefähr

---

1) A. Vossius, Archiv f. exper. Pathol. **11.** 441. — E. Stadelmann, daselbst **16.** 128.

2) J. P. Karplus, Centralbl. f. klin. Med. **14.** 577. 1893.

3) Heynsius, Pflüger's Archiv **4.** 456.

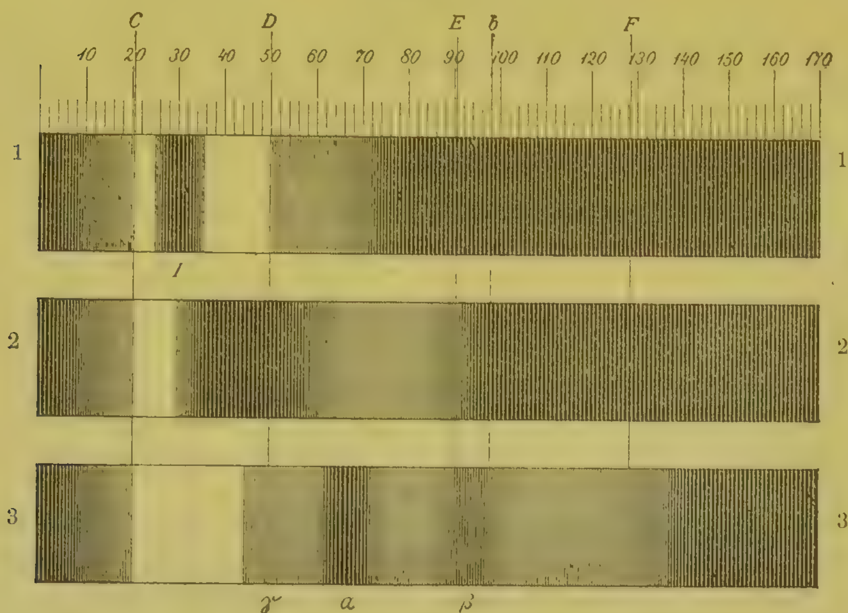
4) L. Lewin und C. Posner, Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1887. 355.

48° (in Folge der Zersetzung des Hämoglobins durch den sauren Harn; vgl. § 43. VIII. B. 7.; S. 495).

B. *Eigenschaften.* 1. Die Zusammensetzung des Hämatins ist von der Darstellungsweise abhängig. Die Formel desselben ist nach Hoppe-Seyler $C_{34}H_{34}N_4FeO_5$, nach Nencki mit Sieber, sowie nach Bialobrzeski und nach Küster $C_{32}H_{32}N_4FeO_4$ und nach Mörner[1]) $C_{35}H_{36}N_4FeO_5$. Es enthält darnach immer auf ein At. Fe 4 At. N. Das Hämatin von Hoppe-Seyler halten Nencki und Sieber für die Monoacetylverbindung ihres Hämatins.

2. Das Hämatin kann sauerstoffhaltig und sauerstofffrei (Hämochromogen) erhalten werden. Das gewöhnliche ist das sauerstoffhaltige. In reinem Zustand ist dieses in dichten Massen blauschwarz, fein vertheilt dunkelbraun. Es löst sich nicht in Wasser, Alkohol, Aether, Chloroform, nicht in wässrigen Säuren, aber in

Fig. 11.



Spectren des Hämatins: 1. Lösung in saurem Alkohol, 2. in Ammoniak, 3. reducirtes Hämatin.

geringer Menge in Eisessig, sowie in säurehaltigem Alkohol oder Aether, leicht in Alkalihydraten und -carbonaten, mit brauner Farbe. Aus der sauren ätherischen oder alkoholätherischen Lösung krystallisirt es in braunen Nadeln (C. G. Lehmann, Preyer, Jäderholm[2]).

3. Das sauerstoffhaltige Hämatin zeigt in saurer Lösung ein dem des Methämoglobins in neutraler Lösung sehr ähnliches Spectrum (Fig. 11, Sp. 1), in welchem namentlich der Streifen in Roth stark hervortritt. Dasselbe Spectrum weisen auch die natürlichen Hämatinlösungen (Harn etc.) auf. Der Streifen in

[1]) M. Nencki und N. Sieber, Archiv f. exper. Pathol. **18**. 401. 1884. — Bialobrzeski, Ber. d. chem. Gesellsch. **29**. 2842. — W. Küster, das. **30**. 109. — K. A. Mörner, Nordiskt medicinskt Arkiv, Festband, Axel Key gewidmet. 1897. Nr. 1 u. 26.

[2]) C. G. Lehmann, Handb. d. physiol. Ch. 1859. 159 flg. — W. Preyer, Die Blutkrystalle. 1871. 184. — A. Jäderholm, Ztschr. f. Biol. **13**. 243. 1877.

Roth hat keine feste Lage, in stärker salzsauren Lösungen liegt er näher an C als in schwächer salzsauren, in der sauren ätherischen Lösung näher an C, als in der sauren alkoholischen Lösung (Sorby, Jäderholm). In stark saurer alkoholischer Lösung kann der Streifen nach Nencki und Sieber sogar zwischen B u. C liegen. — Das Spectrum des Hämatins in ammoniakalischer Lösung besitzt nur einen, rechts an D grenzenden oder, bei concentrirter Lösung, D überragenden Streifen (Fig. 11, Sp. 2). Die Lösung des Hämatins in natriumhydrathaltigem Alkohol oder in Natriumcarbonat besitzt dagegen nach Bertin-Sans und Moitessier[1]) einen Streifen in Roth, dessen Mitte auf λ 618 (C 49 D) liegt.

4. Aus alkalischen Lösungen wird es durch Calcium- oder Baryumsalze in braunen Flocken gefällt (Cazeneuve), aus Calciumphosphat enthaltenden Lösungen auf Zusatz von Alkalihydrat zugleich mit dem Phosphat in blutrothen Flocken (Heller). Chlorzink und Ammoniak schlagen gleichfalls das Hämatin nieder (Cazeneuve[2]). Eine Verbindung des Hämatins mit Salzsäure, das Hämin, $C_{32}H_{31}N_4FeO_3$, Cl krystallisirt in braunen rhombischen Täfelchen beim Erwärmen von Hämoglobin mit Eisessig und einem Chlorid; Alkalihydrat oder Carbonat entziehen der Verbindung die Säure. Es löst sich nicht, im Gegensatz zu braunen Zersetzungsprodukten des Hämatins, in Chloroform.

5. Reduktionsmittel entziehen dem Sauerstoff-Hämatin den Sauerstoff und führen es in reducirtes Hämatin (Stokes) oder Hämochromogen (Hoppe-Seyler) über. Nimmt man die Reduktion durch Kaliumsulphid oder Kaliumhydrosulphid, Schwefelammon, weinsaures Eisenoxydul, Natriumhydrosulphit vor, so erscheint nach Bertin-Sans und Moitessier ein Absorptionsstreifen auf D, und erst wenn man die Lösung mit Ammoniak oder einem Amin (Aethylamin, Anilin) oder einer Amidosäure (Glykokoll, Taurin) oder einer Spur Eiweiss versetzt, tritt das Spectrum des Hämochromogens auf. Harnstoff ist dagegen ohne Einfluss. Das Spectrum des Hämochromogens hat einen dunklen Absorptionsstreifen α in der Lage von D 25 E — D 63 E und einen blasseren β, der kurz vor E beginnt und sich etwas über b hinaus erstreckt. Der Schatten γ auf D in der Abbildung rührt von einer Nebenwirkung des zur Reduction verwendeten Schwefelammons her. Beim Ansäuern der Lösung verschwinden die Absorptionsstreifen. Das von Bertin-Sans und Moitessier gefundene Zwischenprodukt zwischen Hämatin und Hämochromogen nennen sie gleichfalls reducirtes Hämatin.

6. Unter der Einwirkung von Mineralsäuren (Schwefelsäure, Bromwasserstoff) geht das Sauerstoff-Hämatin leicht in Hämatoporphyrin über; das Hämochromogen erleidet diese Verwandlung nach Hoppe-Seyler schon durch schwache Säuren.

7. Bei der Behandlung einer sauren alkalischen Hämatinlösung mit Wasserstoffsuperoxyd erhielt Mac Munn[3]) eine dem Urobilin oder Choletelin ausserordentlich ähnliche Substanz. Ihre alkoholische Lösung zeigte ein Band bei F, welches auf Zusatz von Ammoniak verschwand, auf nachträglichen Zusatz von Chlorzink trat grüne Fluorescenz auf und das Band war nach Roth hin verschoben; dasselbe weiter nach Roth zu gelegene Band trat auch auf bei Zusatz von Chlorzink allein und von Natriumhydrat.

C. *Nachweis.* 1. Das Hämatin lässt sich am Sichersten und Einfachsten durch die Spectraluntersuchung von anderen farbigen Substanzen unterscheiden. Man darf sich aber nicht damit begnügen, im Harn direkt einen starken Absorptionsstreifen im Roth nachgewiesen zu haben, weil dieser auch dem Methämoglobin zukommt, sondern muss die Flüssigkeit mit Ammoniak alkalisch machen und nach dem Filtriren nochmals untersuchen. Bei Gegenwart von Hämatin ist das Spectrum 2 sichtbar, das auf Zusatz von Schwefelammon nach einiger Zeit in das Spectrum 3 übergeht.

---

1) Jäderholm, a. a. O. 200. — Nencki u. Sieber, a. a. O. 412. — H. Bertin-Sans u. J. Moitessier, Bull. de la Soc. chim. [3] **9**. 380. 1890.

2) Cazeneuve, Bull. de la Soc. chim. [2] **27**. 486. — Derselbe, Sur l'hématine. Thèse, Paris 1876. 63.

3) Mac Munn, Journ. of Physiol. **6**. 35; **10**. 98.

2. Man kann auch den Harn nach dem Ansäuern mit Essigsäure mit Aether ausschütteln; die bei Anwesenheit von Hämatin braune Lösung giebt das Spectrum (1) des Hämatins in saurer Lösung. Ammoniak fällt aus ihr zunächst braunes Hämatin, das sich darauf in der wässrigen Schicht löst (Spectrum 2) und sich reduciren lässt. Bei sehr langsamem Verdunsten der ursprünglichen ätherischen Lösung (in einem Reagensglas) können sich die braunen prismatischen Krystalle des Hämatins absetzen.

B. Blauer Farbstoff.

Indigblau.


$C_{16}H_{10}N_2O_2$.

Syn.: Indigo, Indigotin.

A. *Vorkommen.* Das Indigblau ist, wie das Indigroth, ein Zersetzungsprodukt der Indoxylschwefelsäure und der Indoxylglykuronsäure. Ueber die Mengen, in welchen es aus dem Harn gewonnen werden kann, ist bei Indoxyl berichtet.

B. *Eigenschaften.* 1. Das Indigblau ist dem Indigroth isomer. Es bildet ein dunkelblaues amorphes Pulver oder mikroskopische Krystalle. Das sich aus Harn absetzende erscheint öfter in feinen gekrümmten, sternförmig angeordneten Nadeln, oder in Plättchen; aus manchen Lösungsmitteln krystallisirt es in Nadeln oder Tafeln. In dichten Massen zeigt das amorphe Indigotin, namentlich auf dem Striche, ebenso wie die Krystalle, einen kupferrothen Metallglanz. Es sublimirt mit violettem, jodähnlichen Dampf, der sich krystallinisch verdichtet.

Sein Dampf zeigt nach Rosin[1]) nicht blos das Absorptionsspectrum des Indigblaus, sondern daneben auch das des Indigroths und dem Sublimat lässt sich auch dann durch Aether Indigroth entziehen, wenn reines Indigblau zu dem Versuch verwendet wurde.

2. In Wasser ist das Indigblau unlöslich. Chloroform löst es schon in der Kälte, Alkohol in der Wärme in nicht unbedeutender Menge, Aether dagegen nur in Spuren.

Auch löst es sich in der Wärme in Methylalkohol, Amylalkohol, Benzol, Nitrobenzol, Phenol, Anilin, ätherischen und fetten Oelen, und krystallisirt aus einigen dieser Lösungsmittel beim Erkalten wieder aus.

3. Sehr fein vertheilter, in Wasser suspendirter Indigo zeigt nach Vierordt ein schlecht begrenztes Absorptionsband im Roth zwischen a und B 25 C; in dickeren Schichten verbreitert sich das Band bis C 10 D, und dann erscheint noch ein zweites, sehr schwaches, gleichfalls schlecht begrenztes Absorptionsband im Grün zwischen D 50 E und D 77 E. Wie das suspendirte Indigblau verhalten sich nach Stokvis[2]) auch seine Lösungen in indifferenten Flüssigkeiten.

---

1) H. Rosin, Virchow's Archiv **123**. 561. 1891.

2) C. Vierordt, Ztschr. f. Biologie **10**. 31. 1874; **11**. 187. 1875. — B. J. Stokvis, Chem. Centralbl. 1871. 36.

Die Indigblauschwefelsäure oder ihre Salze absorbiren nach Vierordt das äusserste Roth am Wenigsten, die Absorption nimmt schnell zu und es tritt im Orange, zwischen C 65 D und C 90 D ein Absorptionsband auf; dann sinkt die Absorption wieder continuirlich bis zum violetten Ende des Spectrums, die Absorption im Blau ist dabei aber etwa 12 mal so stark wie im Roth.

4. Verdünnte Säuren oder Alkalien greifen das Indigblau nicht an. Concentrirte englische Schwefelsäure verbindet sich mit ihm zu Monosulfosäure (Phoenicin- oder Purpurschwefelsäure), deren Salze in trocknem Zustand roth, in Lösung blau sind; rauchende Schwefelsäure liefert Disulfosäure (Coerulin- oder Indigblauschwefelsäure), deren Salze in Lösung wie in trockner Form blau sind. — Sehr concentrirte Kalilauge verwandelt es nach Heumann und Bachofen[1]) leicht in Indoxyl.

5. Oxydirende Substanzen, wie Chlor, Salpetersäure, entfärben das Indigotin unter Bildung von Isatin und Abkömmlingen desselben; andere Oxydationsmittel (übermangansaures Kali etc.) entfärben das Indigblau gleichfalls. Bei gleichzeitiger Gegenwart anderer oxydabler Substanzen, wie gewisser Harnbestandtheile (Harnstoff etc.), erfolgt diese Oxydation des Indigos weniger leicht. Dieselbe Farbenveränderung erleiden auch die Phoenicin- und die Indigblauschwefelsäure.

6. Bei Gegenwart von alkalischen Substanzen (Kalilauge, Calciumhydrat) und leicht oxydirbaren Körpern (Alkalisulphide, Zink, Zinn, Eisen, Eisenvitriol, Zinnoxydul, Traubenzucker, Harn) wird das Indigotin unter Wasserstoffaufnahme zu Indigweiss, $C_{16}H_{12}N_2O_2$, das sich bei Zutritt von Luft wieder in Indigblau verwandelt (Indigküpe).

C. *Nachweis.* In welcher Weise Indigblau aus Harn dargestellt und nachgewiesen wird, ist § 7. V. D. S. 166 angegeben. Zum Nachweis desselben in blauen Sedimenten und in Harnsteinen digerirt man sie zunächst mit verdünnter Salzsäure, wäscht auf dem Filter mit Wasser, trocknet das Filter und zieht es mit Chloroform aus. Die Lösung untersucht man spectroskopisch.

Urobilin lässt sich aus der Chloroformlösung durch Schütteln derselben mit verdünntem Alkali entfernen, Indigroth durch Behandeln des Abdampfungsrückstandes mit Aether, welcher das Indigroth viel leichter löst als das Indigblau.

Lässt sich das blaue Pulver leicht vom Filter ablösen, so kann man es auch in concentrirter Schwefelsäure lösen und die Lösung der spectroskopischen Untersuchung unterwerfen.

C. Rothe Farbstoffe.

I. Hämatoporphyrin.



$C_{16}H_{18}N_2O_3$.

Syn.: Eisenfreies Hämatin, Preyer's Hämatoin, Saillet's[2]) Urospectrin.

Das Hämatin wird bei der Einwirkung concentrirter Schwefelsäure (Mulder), bei der Behandlung seiner Lösung in säurehaltigem Alkohol mit Zinn oder Zink in gelinder Wärme ohne Gasentwicklung (F. Hoppe-Seyler), sowie durch Erwärmen seiner Lösung in Eisessig mit Bromwasserstoff (Nencki und Sieber in Hämatoporphyrin verwandelt. Hämochromogen (reducirtes Hämatin) geht bei der Einwirkung selbst schwacher Säuren leicht in Hämatoporphyrin über (F.

---

1) K. Heumann und F. Bachofen, Berichte der chem. Gesellsch. **26**. 225. 1893.

2) Saillet, Bull. de thérapeutique 1894. 400; Revue de médecine **16**. 542. 1896.

Hoppe-Seyler). Das Verfahren von Nencki und Sieber[1]) scheint allein ein reines Präparat zu liefern. Bei der weiteren Behandlung mit reducirenden Mitteln liefert es einen Körper, der sich spectroskopisch wie das Urobilin verhält.

A. *Vorkommen.* Nach den Untersuchungen von Garrod sowie von Saillet kommt das Hämatoporphyrin in geringer Menge aber regelmässig im normalen Harn des Menschen und nach Stokvis auch der Kaninchen vor. Reichlicher findet es sich, wie zuerst Mac Munn dargethan hat und namentlich Riva und Zoja, sowie Garrod bestätigt haben, bei den verschiedensten mit und ohne Fieber verlaufenden Krankheiten, ohne dass die Harne in der Farbe etwas Auffälliges darbieten. Sehr oft sind auch dunkel weinrothe hämatoporphyrinreiche Harne während und nach dem Gebrauch von Sulfonal gesehen und untersucht worden, so von Stokvis, Salkowski, Hammarsten und vielen Anderen; doch sind auch so stark gefärbte Harne (Neusser, Sobernheim[2]) u. A.) vorgekommen ohne den Gebrauch dieses oder ähnlicher Mittel.

Manchmal enthalten nach Garrod[3]) die Uratsedimente Hämatoporphyrin, dann aber in einer Form, in welcher es das metallische Spectrum zeigt.

Mac Munn erhielt das Hämatoporphyrin nicht rein, sondern mit anderen Farbstoffen, namentlich Urobilin, gemengt, hielt aber diese Gemische für eigenartige Körper. Das an Urobilin reichere Hämatoporphyrin ist sein febriles, oder, wie er es später nannte, pathologisches Urobilin, das an Urobilin ärmere Gemisch sein Urohämatin, oder, nach späterer Bezeichnung Urohämatoporphyrin. Mit der Untersuchung der Farbstoffe von Mac Munn haben sich Garrod und Hopkins[4]) beschäftigt. Garrod, sowie Riva und Zoja stellten zuerst das Hämatoporphyrin aus Harn rein dar.

Neben dem Hämatoporphyrin kommt im Harn noch das Chromogen des Farbstoffs vor (B. 7.).

Sehr kleine Mengen Hämatoporphyrin hat Stokvis in sehr vielen Harnen, auch Gesunder, nach einem dem Garrod's ähnlichen Verfahren aufgefunden. —

---

1) F. Hoppe-Seyler, Medic. chemische Untersuchungen 1871. 528. — M. Nencki u. N. Sieber, Monatshefte f. Chemie **9**. 115. 1888; Arch. f. exper. Pathol. **24**. 430. 1888. — Nencki u. Rotschy, Monatsh. f. Ch. **10**. 568.

2) Archibald E. Garrod, Journ. of Physiology **13**. 619. 1893; **17**. 350. 1894. — Saillet, a. a. O. – Stokvis, Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1896. 177. — Ch. A. Mac Munn, Proceed. Roy. Soc. **31**. 26 u. 206; Jahresb. f. Thierch. 1881. 211; Brit. med. Journal, October 1885; Centralbl. f. d. med. Wiss. 1884. 138; Journal of Physiology **6**. 36. 1885; **10**. 71. 1889. — A. Riva u. L. Zoja, Gazetta medica di Torino, anno XLIII. n. 22. 1892. — L. Zoja, Centralbl. f. d. med. Wiss. 1892. 706; Archivio italiano di clinica medica 1893; Archives italiennes de Biologie **19**. fasc. 3. 1893. — Garrod, Journ. of Physiol. **13**. 598. 1893; **15**. 108. 1894. – B. J. Stokvis, Nederl. Tijdschr. voor Geneesk. 1889. 2. 413. — Salkowski, Ztschr. f. physiol. Ch. **15**. 286. 1891. — Hammarsten, Skandin. Archiv **3**. 319. 1892. — E. Neusser, Sitzungsb. d. k. Akad. d. Wiss. **84**. 3. Abth. 536. 1881. — Sobernheim, Deutsche med. Wochenschr. 24. 1892.

3) Garrod, Journ. of Physiol. **15**. 116. 1893; **17**. 441. 1895.

4) Mac Munn, Proc. a. a. O.; Journ. of Physiol. **6**. 35. — A. E. Garrod, u. F. G. Hopkins, Journ. of Physiol. **20**. 131. 1896.

Hopkins[1]) hat beobachtet, dass beim Sättigen des Harns mit Chlorammon mit der Harnsäure auch Hämatoporphyrin ausfällt; es lässt sich dem Niederschlag durch angesäuerten Alkohol oder durch wässrige Salzsäure in überraschend vielen Fällen, auch bei Verarbeitung normalen Harns, entziehen und spectroskopisch nachweisen. — Es ist, bei Verwendung genügend grosser Harnmengen, nicht schwer, sich von der Richtigkeit der Angaben Garrod's über das Vorkommen von Hämatoporphyrin im normalen Harn zu überzeugen.

Man kann, nach meinen Erfahrungen, fast mit Bestimmtheit darauf rechnen, im Fieberharn viel mehr Hämatoporphyrin anzutreffen, als im Harn Gesunder. Nach Garrod[2]) tritt es in reichlicher Menge auf bei enterischem Fieber, Addison'scher Krankheit, bei Morbus Basedowii und Phthisis, in mässiger Vermehrung bei Störungen der Leberthätigkeit und der Thätigkeit der blutbereitenden Organe überhaupt (Riva und Zoja) und zwar gewöhnlich bei Cirrhose und Carcinom der Leber, sehr constant bei der Bleivergiftung (Stokvis), beim acuten Rheumatismus (Mac Munn) und bei Gicht. Keine Vermehrung findet statt bei der perniciösen Anämie. Auch die Hämatoporphyrinurie nach dem Gebrauch von Sulfonal geht nicht mit einer gesteigerten Zerstörung der Blutkörperchen einher. Die von Stokvis ausgesprochene Vermuthung, dass das Hämatoporphyrin im Darm aus dahin gelangtem Blut entstehe, und dass sich die nach dem Gebrauch von Sulfonal auftretende starke Hämatoporphyrinurie aus Blutungen in den Darm erkläre, hat sich nach Untersuchungen von Garrod und Hopkins, von Kast und Weiss sowie von Stokvis[3]) selbst als nicht begründet erwiesen.

Auch der Gebrauch von Trional hat nach Schultze, Herting u. A.[4]) eine so starke Ausscheidung von Hämatoporphyrin im Gefolge, wie der von Sulfonal, ebenso nach Herting der Gebrauch von Tetronal.

Genaueres über die Mengenverhältnisse, in denen das Hämatoporphyrin unter verschiedenen Umständen auftritt, wird man erst erfahren, wenn systematische Untersuchungen hierüber nach einheitlicher Methode angestellt werden. Versuche zu quantitativer Bestimmung sind nur wenig unternommen worden. Garrod fand im Liter normalen Harn durch Wägen des in Alkohol löslichen Antheils des Farbstoffs 0,7 mg, bei einem Herzfehler mit Lebercirrhose durch Wägen und colorimetrische Bestimmung im Liter 10 mg, wobei zu berücksichtigen ist, dass bei der Darstellung des Farbstoffs ungefähr die Hälfte verloren geht. Saillet bestimmte spectrometrisch in der Tagesmenge normalen Harn 2—11 mg, nur $^1/_{10}$ soviel, als der normale Harn Urobilin enthält; Urobilin und Hämatoprophyrin steigen und fallen im normalen Harn mit einander. Aus einem Liter Sulfonalharn fällte Salkowski[5]) nach seinem Verfahren 0,87 g Hämatoporphyrin (organische Substanz).

B. *Eigenschaften.* 1. Das von Nencki und Sieber mittelst Bromwasserstoff aus Hämatin dargestellte Hämatoporphyrin, $C_{16}H_{18}N_2O_3$, wird aus seiner Lösung in schwacher Salzsäure beim Neutralisiren mit Natronlauge und nachträglichen Zusatz einiger Tropfen Essigsäure oder

---

1) Stokvis, Jahresb. f. Thierch. 1893. 593. — F. Gowland Hopkins, Guy's Hosp. Reports **50**. 356. 1893; Journ. of Pathology and Bacteriology **1**. 453. 1893.

2) Garrod, Edinburgh med. Journal, August 1897. 113.

3) Stokvis, Tijdschr. a. a. O. 409; Jahresb. f. Thierch. 1893. 593; Ztschr. f. klin. Med. **28**. 1. — Garrod u. F. G. Hopkins, Journ. of Pathol. and Bacteriol. Jan. 1896. 434. — A. Kast u. Th. Weiss, Berliner klin. Wochenschr. 28. 1896. — Stokvis, Centralbl. f. d. med. Wiss. 1896. 177.

4) Schultze, Deutsche med. Wochenschr. 7. 1894. 152. — Herting, das. 15. 1894.

5) Garrod, a. a. O. **17**. 352. — Saillet, Revue de méd. **16**. 552; **17**. 127. — Salkowski, Zeitschr. f. physiol. Ch. **15**. 299. 1891.

besser sogleich durch Zusatz von essigsaurem Natron in amorphen braunen Flocken gefällt. Diese lösen sich fast nicht in Wasser, in verdünnter Essigsäure, Benzol, Nitrobenzol, Aethylenbromid, nur wenig in Aether, Amylalkohol, Chloroform, Phenol, leicht aber in Alkohol, in den Alkalihydraten und -Carbonaten, sowie in verdünnten Mineralsäuren. Es löst sich auch leicht in Eisessig, diese Lösung scheidet aber nach Nencki und Rotschy[1]) langsam braunrothe Krystalle von der Form des Hämatoidins ab, die sich nur spurenweise in Alkohol und in verdünnter Salzsäure, leicht dagegen in den Alkalien lösen.

Wird das Hämatoporphyrin bei 100° getrocknet, so büsst es unter fortwährendem Gewichtsverlust an Löslichkeit in verdünnter Salzsäure und in Alkohol ein.

Das durch Einwirkung von conc. Schwefelsäure auf Hämatin gewonnene Hämatoporphyrin besitzt die Zusammensetzung $C_{32}H_{34}N_4O_5$ und wird von Nencki und Sieber[2]) als das Anhydrid der oben beschriebenen Verbindung betrachtet. Es bildet braune, in Alkohol, in Aether und in verdünnten Säuren fast unlösliche, in den Alkalien aber leicht lösliche Flocken.

Auch das Hämatoporphyrin aus Harn scheidet sich nach Garrod[3]) aus seinen Lösungen in Chloroform, in Aethyl- und Amylalkohol beim (freiwilligen) Verdunsten immer amorph, gewöhnlich in sehr kleinen Kugeln aus und löst sich darnach leicht in Alkohol. Seiner Lösung in Chloroform lässt es sich durch Schütteln mit angesäuertem Wasser entziehen (Huppert).

Das von Saillet[4]) aus dem Harn gewonnene Hämatoporphyrin fällt bei annäherndem Neutralisiren seiner salzsauren Lösung mit Ammoniak als braunes amorphes Pulver aus. Es ist unlöslich in Petroläther, fast unlöslich in Wasser und in Chloroform, wenig löslich in Essigäther und in Schwefeläther, besser in Alkohol, sehr leicht in Essigsäure, in Oxalsäure, in Mineralsäuren und in Alkalien. In Gegenwart von Mineralsäure oder Alkali löst es sich leichter in Wasser als in Essigäther und in Schwefeläther, durch 5 proc. Salzsäure wird es seiner Lösung in den beiden Aethern entzogen; in neutralem Zustand oder in Gegenwart von Essigsäure oder Oxalsäure oder einer Spur Mineralsäure löst es sich dagegen in den beiden Aethern besser als in Wasser, es wird aus der essigsauren Lösung durch die Aether aufgenommen.

Die alkoholische und die alkalische Lösung des von Nencki und Sieber dargestellten Hämatoporphyrins sind schön roth und zeigen ein Absorptionsspectrum mit 4 Streifen (das »alkalische« Spectrum, Spectrum 2). Dasselbe weist auch die alkoholische, mit Essigsäure angesäuerte Lösung auf. Das Anhydrid verhält sich spectroskopisch wie das Hydrat (Nencki und Sieber). An der Luft nimmt die alkalische Lösung allmählich einen bräunlichen Ton an.

---

1) Nencki u. Sieber, Archiv f. exper. Pathol. **24**. 432. — M. Nencki u. A. Rotschy, Monatshefte f. Ch. **10**. 568.

2) Nencki u. Sieber, Monatshefte f. Ch. **9**. 116; Arch. f. exp. Pathol. **18**. 413; **24**. 438.

3) Garrod, a. a. O. **13**. 606.

4) Saillet, Revue de méd. **16**. 545.

2. Es bildet nach Nencki und Sieber mit Salzsäure ein in langen braunrothen rhombischen Nadeln krystallisirendes Salz $C_{16}H_{18}N_2O_3$, HCl. Die Verbindung löst sich leicht in ganz schwach saurem Wasser, mit wachsender Concentration der Säure nimmt aber die Löslichkeit ab. Durch Kochsalz, Chlormagnesium, Ammonsulphat und andere Neutralsalze wird das salzsaure Hämatoporphyrin gefällt; hat man Neutralsalz nicht bis zur Fällung eingetragen oder den bereits gebildeten Niederschlag abfiltrirt, so krystallisirt die Verbindung beim Stehen der Lösung in Krystallbüscheln. Wasser zersetzt die Krystalle, in verdünnter Salzsäure sind sie aber haltbar; beim Erwärmen verharzt die Lösung leicht. Die Krystalle bräunen sich leicht im Licht; beim Trocknen über Schwefelsäure werden sie amorph. Die über Schwefelsäure und Natronkalk bis zur Gewichtsconstanz getrockneten Krystalle lösen sich nicht mehr vollständig in Wasser, aber in Alkohol.

Die Lösungen in verdünnten Mineralsäuren sind lebhaft roth mit einem Stich ins Blaue und bieten das »saure« Absorptionsspectrum dar (Sp. 1.). Eine alkoholische Lösung der über Schwefelsäure und Natronkalk vollständig getrockneten Krystalle zeigt das «fünfbandige alkalische» Spectrum (Sp. 3), auf Zusatz einer Spur Salzsäure zur Lösung verschwindet dieses aber und an seine Stelle tritt das »saure« Spectrum.

3. Das Hämatoporphyrin verbindet sich auch mit Metallen. Von diesen Verbindungen scheinen wenigstens die mit den Alkalien in zweierlei Form zu bestehen. Aus der Lösung von Hämatoporphyrin in warmer Natronlauge scheidet sich nach Nencki und Sieber beim Erkalten die Verbindung $C_{16}H_{17}NaN_2O_3, H_2O$ in kleinen Drusen brauner doppelbrechender Krystalle aus. Das Salz ist in Wasser bedeutend leichter löslich als das Chlorid, aber nur wenig in kaltem Alkohol. In Wasser leicht löslich sind ausserdem nur noch das Kalium- und das Ammonsalz. Salze mit anderen Metallen erhält man aus dem Natriumsalz durch Doppelzersetzung. Essigsaures Zink gab ein amorphes Salz von der Zusammensetzung $C_{16}H_{16}ZnN_2O_3, H_2O$, salpetersaures Silber ein Salz, welches annähernd die Zusammensetzung $C_{16}H_{17}AgN_2O_3$ hatte. Die Salze der schweren Metalle sind unlöslich, das Baryum- und Calciumsalz nahezu unlöslich in Wasser. Auch die Metallverbindungen vertragen das Trocknen in höherer Temperatur nicht.

Von den Metallverbindungen des Hämatoporphyrins lässt sich eine Lösung des Zinksalzes leicht in der Weise darstellen, dass man eine ammoniakalisch gemachte Hämatoporphyrinlösung mit etwas Chlorzinklösung versetzt. Das alkalische Spectrum verschwindet und an seine Stelle tritt das »metallische« Spectrum (Sp. 4.). Diese Umwandlung der Spectren vollzieht sich jedoch sehr langsam und ist oft erst nach Stunden vollendet. Die Geschwindigkeit der Reaction scheint nach

Hammarsten von dem Gehalt der Flüssigkeit an Zink und der Alkalescenz abzuhängen. Im Gegensatz zu dem Urobilin zeigt eine Lösung des reinen Salzes keine Spur einer Fluorescenz. Das Spectrum der Zinkverbindung ist zuerst von Mac Munn und darnach von Hammarsten und von Garrod[1]) beschrieben worden.

Solche Metallsalze des Hämatoporphyrins lassen sich nach Riva und Zoja auch darstellen, wenn man eine Lösung des Farbstoffs in Amylalkohol (einen amylalkoholischen Harnauszug) mit Salzlösungen versetzt; es fallen dann die Metallverbindungen aus.

Die Bildung des Niederschlags erfolgt leichter, wenn man vor dem Zusatz des Salzes dem Amylalkohol ein wenig Ammoniak hinzufügt und dieses durch die erforderliche Menge Aethylalkohol in Lösung bringt. Zoja hat so Niederschläge erhalten mit Chlorcalcium und Chlorbaryum, Chlorzink, Bleiacetat, Quecksilberchlorid, Zinnchlorür, und auch mit Chlorammon. Die Niederschläge lassen sich durch Waschen mit Amylalkohol und mit Aethylalkohol von anderen farbigen Substanzen (Urobilin) befreien und geben dann in Alkohol suspendirt das metallische Spectrum; nur scheint die Lage der Streifen, ihre Breite und Intensität nach der Art des Metalls etwas verschieden zu sein. Behandelt man sie mit Natriumcarbonat oder Natriumhydrat, so erhält man farbige Flüssigkeiten, welche gleichfalls das metallische Spectrum darbieten. Ihre Lösungen in salzsäurehaltigem Wasser sind prächtig violettroth und zeigen das saure Spectrum, und dieses wird, wenn man die Flüssigkeit alkalisch macht, zum alkalischen Spectrum. Nur der Bleiniederschlag macht eine Ausnahme. Das Blei fällt auch andere Farbstoffe, deren Spectren in der Lösung mit zum Vorschein kommen und ausserdem können zugleich auch mehrere Spectren des Hämatoporphyrins neben einander auftreten, z. B. das saure und das fünfbandige alkalische. Zoja hat in den Lösungen des Bleiniederschlags oft auch noch einen breiten Streifen in der Mitte zwischen F und G, von der Lage des zweiten Luteinstreifens, beobachtet.

Der Zinkniederschlag ist flockig und braun, unlöslich in Wasser, Amylalkohol, absolutem Alkohol, Aether und Chloroform, löslich in concentrirter und schwacher Natronlauge, in angesäuertem Alkohol und in concentrirten und verdünnten Mineralsäuren; in zwei Versuchen von Zoja ging derselbe bei Verwendung eines Ueberschusses des Fällungsmittels (alkoholisch-ammoniakalischer Zinklösung) wieder in Lösung und nach 12—18 Stunden hatten sich an der Wand des Glases Gruppen kleiner rother, in Alkohol unlöslicher Krystalle abgesetzt. Die beabsichtigte Darstellung solcher Krystalle gelang jedoch nicht. — Der Barytniederschlag war ziegelroth, der mit Zinnchlorür erhaltene Niederschlag oft roth.

Nach Zoja verschwindet in einer alkoholisch-ammoniakalischen Hämatoporphyrinlösung nach einiger Zeit das alkalische Spectrum und es tritt das metallische an seine Stelle; auch beide Spectren neben einander können zur Beobachtung gelangen. Eine ähnliche solche Ammonverbindung erhielt Saillet[2]) bei anhaltendem Kochen einer ammoniakalischen Hämatoporphyrinlösung.

Die anfangs hellrosenrothe Lösung wird bald dunkelrosenroth, weist aber zunächst noch das alkalische Spectrum auf; bei weiterem Kochen tritt an die Stelle dieses ein dem des Sauerstoff-Hämoglobins täuschend ähnliches; auf Zusatz von Säure erscheint jetzt sogleich das saure Spectrum. Setzt man das Kochen der

---

1) Hammarsten, Skandinav. Arch. **3**. 329. — Garrod, a. a. O. **13**. 613.
2) Saillet, Revue de méd. **16**. 548.

ammoniakalischen Lösung unter Ersatz des verdunstenden Wassers sehr lang fort, so beginnt sich ein an der Wand des Gefässes haftender Niederschlag abzuscheiden; löst man den Niederschlag nach dem Erkalten in Ammoniak und neutralisirt oder übersättigt die Lösung mit Salzsäure, so fallen langsam blutrothe Flocken aus, während das unveränderte Hämatoporphyrin in Lösung bleibt.

Nach dem Waschen des Niederschlags mit angesäuertem Wasser erweist sich der Niederschlag als unlöslich in Petroläther, Essig- und Schwefeläther, Chloroform, Mineralsäuren und in angesäuertem Wasser. Er löst sich sehr wenig in Wasser und in Alkohol, wenig in angesäuertem Aether, etwas besser in angesäuertem Alkohol, gut in Eisessig, sehr leicht in den Alkalien. In Gegenwart von Alkali ist die Verbindung leichter löslich in Wasser als in Essig- und in Schwefeläther, in Gegenwart einer Mineralsäure leichter löslich in den beiden Aethern als in Wasser.

Die Unlöslichkeit der Substanz in Säuren und in angesäuertem Wasser, und die leichte Löslichkeit des Hämatoporphyrins in ihnen ermöglicht eine schnelle und vollständige Trennung beider. Man säuert mit einer Mineralsäure an und schüttelt mit Schwefeläther, wobei sich ein Theil der Verbindung löst, der andere Theil sich in Flocken an der Grenzschicht abscheidet, während das Hämatoporphyrin in der sauren Flüssigkeit gelöst bleibt. Die Flocken lösen sich in einem Gemisch von Alkohol und Aether.

Die Lösungen besitzen eine dunkelrosenrothe, von der des Hämatoporphyrins verschiedene Farbe, die in neutralen, sauren und alkalischen Lösungen nicht verschieden ist. Die Lösung (in Alkohol, Essigsäure, Alkalien) besitzt ein zweibandiges, dem des reducirten Hämatins sehr ähnliches Spectrum, weshalb Saillet die Substanz als eisenfreies Hämochromogen bezeichnet. Der α im Spectrum des reducirten Hämatins entsprechende Streifen ist wie dieser sehr dunkel, seine Mitte entspricht λ 563; der andere, nicht bis b reichende, ist sehr blass und nicht so scharf begrenzt wie der erste (mittlere Wellenlänge λ 527). Das erste Band verschwindet erst bei sehr starker Verdünnung und ist in einer fast farblosen Lösung in saurem Aether noch sichtbar. In der Beständigkeit des Spectrums in neutraler, saurer und alkalischer Lösung ist diese Verbindung vom reducirten Hämatin verschieden. Die in Wasser suspendirte Substanz zeigt ein dem der Zinkverbindung ähnliches Spectrum (Spectrum 4), unterscheidet sich von ihm aber dadurch, dass das rechte Band nicht dunkel ist. Die Mitte des ersten Streifens liegt auf λ 580, die des zweiten auf λ 543. Bei gelindem Erwärmen mit Schwefelsäure oder beim Kochen mit Salzsäure geht die Verbindung wieder in das saure Hämatoporphyrin über.

Bei der Darstellung von Uroerythrin aus rothen Uratsedimenten nach dem Verfahren von Riva und Zoja hat Garrod[1]) wiederholt auch das metallische Spectrum des Hämatoporphyrins im amylalkoholischen Auszug der Sedimente zu Gesicht bekommen.

Der Farbstoff löste sich auch in Chloroform mit rother Farbe, ferner in Essigäther, sowie in heissem absoluten Alkohol, aber nicht in kaltem. Ammoniak und Essigsäure liessen das Spectrum unverändert, Mineralsäuren verwandelten es sofort in das saure; die Lösung in Essigäther zeigte nach einigen Stunden ein dem neutralen ähnliches Spectrum. Die Substanz konnte dem Amylalkohol durch Schütteln mit concentrirter Kochsalzlösung entzogen werden, während das Uroerythrin im Amylalkohol blieb. Das gewöhnliche Hämatoporphyrin geht aus dem Amylalkohol nicht in die Kochsalzlösung über.

---

1) Garrod, Journ. of Physiol. **15**. 117.

4. Farbe.

Die Lösungen des Hämatoporphyrins von der Reinheit, wie man es nach dem Verfahren von Garrod aus Harn (und ebenso aus Blut) gewinnt, besitzen alle eine schön rothe Farbe mit einer Beimengung von Blau. Schwache Lösungen sind von der Farbe einer verdünnten Permanganatlösung oder einer neutralen Lackmuslösung (rosenroth, pink), stärkere Lösungen können als kirsch- und purpurroth bezeichnet werden. Die Verbindungen mit Mineralsäuren und die mit Metallen sind in ihren Lösungen lebhafter roth und etwas mehr nach Blau hin gefärbt, als die Lösungen des Hämatoporphyrins in Alkohol für sich oder nach Zusatz von Ammoniak; diese »alkalische« Lösung ist etwas gelblich roth. — In Lösungen der unreinen Substanz ist dem ursprünglichen Roth Gelb und Braun beigemischt.

5. Spectrum.

Die für die Beschreibung gewählte Bezeichnung der Spectren, in der ich Garrod[1]) folge, entspricht nicht überall dem chemischen Zustande, den der Name zum Ausdruck bringt. Doch wird es sich empfehlen, sie vor der Hand beizubehalten. Einige der Spectren sind einander ausserordentlich ähnlich; für die Erkennung der einzelnen und die Unterscheidung von anderen ist es unbedingt nöthig, sich über den Ort der Absorptionsstreifen mittelst der Scala zu unterrichten. Man sieht die Spectren nur dann deutlich, wenn die Lösung in der zur Untersuchung gelangenden Dicke der Schicht eine ausgesprochene rothe Farbe besitzt.

Der im Folgenden gegebenen Darstellung liegen hauptsächlich die Angaben von Garrod und meine eigenen Erfahrungen zu Grunde.

a. Das saure Spectrum. Das S. 566 als das erste abgebildete Spectrum beobachtet man in der Flüssigkeit, welche man erhält, wenn man den nach Garrod dargestellten Phosphatniederschlag in salzsäurehaltigem Alkohol löst oder mit schwefelsäurehaltigem Alkohol auszieht (C. I. 1. a. u. b. S. 578). Der erste im Orange zwischen C 83 D und D 5 E gelegene dunkle Streifen α hat verwaschene Ränder und überragt mit dem rechten Rande D um ein Weniges. Der Streifen γ im Grün D 42 E—D 77 E, ist viel dunkler als α, aber auch nicht scharf begrenzt. Von seinem linken Rand erstreckt sich nach Gelb hin, etwa bis D 15 E, ein schwacher Schatten, der an seinem linken Ende etwas dunkler ist. Diese Verstärkung des Schattens wird als das Band β bezeichnet. In der Abbildung ist noch eine Verdunklung des Spectrums dargestellt, die sich ungefähr von E

1) Garrod, Journ. of Physiol. **13**. 607.

violettwärts erstreckt; sie gehört wesentlich dem Urobilinstreifen an, und ist, wie Garrod zuerst nachwies, in Lösungen von reinem Hämatoporphyrin, wie man sie z. B. durch Extraction der sauren Lösung des Phosphatniederschlags mit Chloroform erhält, nicht zu sehen. Sehr concentrirte Lösungen reiner Substanz zeigen nach Garrod aber noch einen blassen Schatten, der von E ein wenig über b hinausragt, also eine andere Lage besitzt, als der Urobilinstreifen.

Nach Garrod ist die in Wellenlängen ausgedrückte Lage der Streifen für $\alpha = \lambda$ 597—587, $\beta = \lambda$ 576—565, $\gamma = \lambda$ 557—541.

Das saure Spectrum erhält man auch, wenn man eine Lösung des „alkalischen" Hämatoporphyrins mit einer Mineralsäure versetzt oder eine Metallverbindung des Farbstoffs mit einer Mineralsäure behandelt. Phosphorsäure verhält sich nach Garrod[1]) gegen das alkalische Hämatoprophyrin wie die anderen Mineralsäuren, zweifach saures Phosphat bewirkt diese Veränderung aber erst dann, wenn ein hoher Grad von Acidität erreicht ist. Zusatz von Essigsäure zu einer Lösung des freien Farbstoffs ruft das saure Spectrum aber nicht hervor (Nencki und Sieber). Wäscht man eine saure Lösung des Hämatoporphyrins in Chloroform mit Wasser, so tritt nach Garrod das neutrale und das alkalische, nach Salkowski[2]) das alkalische Spectrum auf.

Der sich an die linke Seite von γ anschliessende Schatten ist nach Garrod in sehr concentrirten Lösungen gleichmässig dunkel; bei fortschreitender Verdünnung hellt sich die unmittelbar an γ angrenzende Stelle des Schattens auf und endlich löst sich β als selbstständiges Band ab; bei weiterem Verdünnen verschwindet β und zugleich werden die beiden anderen Bänder an der Roth zugekehrten Seite zuerst schmaler, dann behalten sie die erlangte Breite und verblassen im Ganzen, γ bleibt aber am Längsten sichtbar. Für die Identificirung sind also die dem Violett zugekehrten Ränder der Streifen die wichtigeren.

Die Lage der Bänder ist keine constante; sie hängt zum Theil vom Lösungsmittel ab. Die Streifen rücken nach Garrod um so mehr nach Roth zu, je höher das Moleculargewicht des Lösungsmittels ist, wie Untersuchungen mit Wasser, Aethyl- und Amylalkohol, Chloroform und Bromoform ergaben. Doch ist der Unterschied nur gering. Bei Verwendung von Aethylalkohol statt Wasser als Lösungsmittel rückt der rechte Rand von α um ungefähr zwei Drittel des Abstands zweier Theilstriche der Scala, welche der Abbildung der Spectren beigegeben ist, und der rechte Rand von γ um nicht ganz einen Theilstrich nach links, und bei Verwendung von Chloroform statt Aethylalkohol beträgt die Verschiebung der beiden Bänder ungefähr ein Drittel und zwei Theilstriche. Enthält das Chloroform Alkohol, so ist die Lageveränderung der Streifen nur sehr gering oder gar nicht wahrnehmbar. Zwischen Aethyl- und Amylalkohol findet kein Unterschied statt.

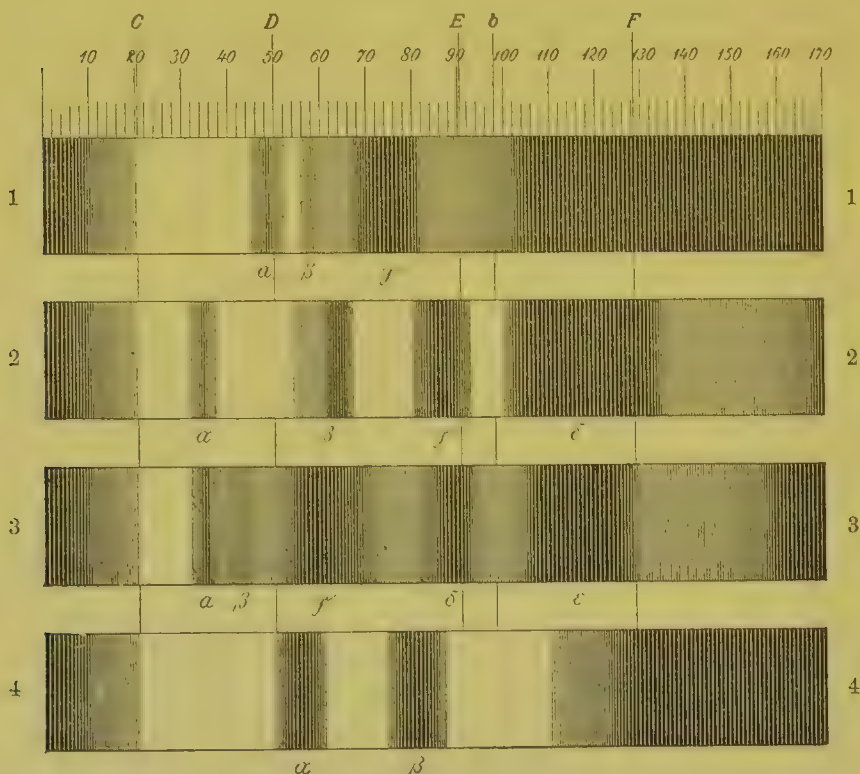
Auch die Acidität ist nach Garrod von Einfluss auf die Lage der Streifen; Zusatz von Säure zur Lösung verschiebt sie nach Roth. Dieser Einfluss der Säure scheint aber unbedeutend zu sein.

b. Das alkalische vierbandige oder schlechthin das alkalische Spectrum, das zweite der Abbildung, hat einen schmalen Streifen α mit stark abgeblassten Rändern in Roth (C 40 D—C 57 D), einen zweiten β in Grün, der als schmaler Schatten nahe bei D beginnt und dessen dunkelste Stelle die Lage D 10 E—D 42 E einnimmt; er hört da auf, wo γ des sauren Spectrums beginnt. Der dritte, γ, liegt gleichfalls in

[1]) Garrod, a. a. O. **15**. 111.
[2]) Garrod, a. a. O. **15**. 115. — Salkowski, Ztschr. f. physiol. Ch. **15**. 293.

Grün bei D 75 E—E 8 F und deckt mit seinem rechten verwaschenen Rande E. Der vierte, δ, auf der Grenze zwischen Grün und Blau, reicht von E 26 F—F 9 G, greift mit dem rechten verwaschenen Rande über F hinaus; er fällt nahezu mit dem Urobilinstreifen γ und mit β des Uroerythrinspectrums zusammen; bei schwacher Beleuchtung geht er ohne Grenze in die vom violetten Ende hereinragende Verdunkelung des Spectrums über. Von den Streifen sind α und β die blassesten und

Fig. 12.



Spectren des Hämatoporphyrins.
1. saures, 2. alkalisches, 3. neutrales, 4. metallisches Spectrum.

gleich dunkel, γ ist dunkler als diese und δ am Dunkelsten. Fehlt α und wird δ übersehen, so können die beiden übrigen Bänder zu einer Verwechslung mit dem metallischen Spectrum Anlass geben.

Nach Wellenlängen α = λ 623—613, β = λ 597—560, γ = λ 541—526, δ = λ 512—491.

Dieses Spectrum ist das Spectrum des freien Hämatoporphyrins. Man sieht es an der Flüssigkeit, die man erhält, wenn man den nach Garrod dargestellten Phosphatniederschlag aus Harn mit schwefelsäurehaltigem Alkohol auszieht und den Auszug (mit Ammoniak) alkalisch macht (C. I. 1. b. S. 573); die Lösung enthält aber dann noch Urobilin. Ohne den Urobilinstreifen kann man das Spectrum an dem Chloroformauszug beobachten, den man erhält, wenn man die Lösung des Phosphatniederschlags in einer Säure mit Chloroform schüttelt, ebenso an der

alkoholischen Lösung des Abdampfrückstands des Chloroformauszugs (C. I. 1. c. u. d. S. 574). Nach einer solchen alkoholischen Lösung ist das Spectrum der Abbildung gezeichnet. Auch der Amylalkohol- und, nach Saillet, der Essigäther-Auszug des Harns bieten dieses Spectrum dar, aber zugleich mit dem des Urobilins und des Uroerythrins.

Bei fortschreitender Verdünnung verschwindet zuerst der Schatten vor β, dann das Band in Roth, die Breite aber der Streifen ist wenig verändert, so lange sie sichtbar sind.

Auch im alkalischen Spectrum ist nach Garrod die Lage der Bänder abhängig vom Lösungsmittel und vom Grad der Alkalescenz. Setzt man zu einer wässrigen alkalischen Lösung wenig Alkohol, so rücken alle vier Bänder etwas nach Blau zu, auf Zusatz von mehr Alkohol nehmen α und β wieder die Lage ein, wie in der wässrigen Lösung, die beiden andern bleiben aber nach Blau verschoben. Eine Lösung des Farbstoffes in reinem starken Alkohol zeigt γ und δ mehr nach Blau, α mehr nach Roth zu, als eine wässrige Lösung, sodass das Spectrum mehr in die Breite gezogen erscheint. — Eine Erhöhung der Alkalescenz verrückt das ganze Spectrum nach Blau. — In einigen Fällen hat Garrod bei Gegenwart eines Ueberschusses von Ammoniak noch ein breites Band in der Mitte zwischen F und G, von der Lage des zweiten Luteinbandes gesehen, und dieselbe Wahrnehmung machte Stokvis[1]) an einer Lösung von Hämatoporphyrin in Alkali, das durch Fällen mit Essigsäure gewonnen worden war. Ein gleiches Band beobachtete Saillet bei einem Oxydationsprodukt des Hämatoporphyrins (B. 6.).

Essigsäure und andere organische Säuren verändern das Spectrum nicht, Salzsäure führt es in das saure über, zweifach saures Phosphat nur bei starkem Ansäuern (Garrod), ammoniakalische Chlorzinklösung in das metallische. Macht man eine Lösung, welche neben Hämatoporphyrin noch Urobilin enthält, erst mit Ammoniak alkalisch und darauf mit Essigsäure sauer, so sieht man das alkalische Spectrum des Hämatoporphyrins neben dem sauren des Urobilins (Garrod und Hopkins). Le Nobel[2]) hat zuerst darauf aufmerksam gemacht, dass auch eine schwach saure Hämatoporphyrinlösung das alkalische Spectrum zeigt; versetzt man dem entsprechend eine stark saure Lösung mit Alkali, so kann, lang bevor die alkalische Reaction hergestellt ist, das alkalische Spectrum zum Vorschein kommen.

c. Das fünfbandige alkalische Spectrum unterscheidet sich von dem gleichnamigen vierbandigen lediglich dadurch, dass in ihm noch ein mit dem linken Rande an C angrenzendes schmales Band im Roth (Extraband ε) zu sehen ist.

Dasselbe ist bald blasser bald dunkler als α des alkalischen Spectrums; es schliesst sich an die vom rothen Ende in das Spectrum hineinragende Verdunkelung an und es ist deshalb nicht immer ein Urtheil darüber zu gewinnen, ob es zugegen ist oder nicht. Mac Munn, der es zuerst sah, war der Meinung, dass wenigstens das Extraband von einem andern Farbstoff als dem Hämatoporphyrin herrühre, und in dieser Ansicht sind ihm Andere gefolgt. Le Nobel schreibt das fünfbandige Spectrum einem von ihm „Substanz B" oder Isohämatoporphyrin benannten Farbstoff zu. Nencki und Sieber haben jedoch gezeigt, dass dem salzsauren Hämatoporphyrin bei Abwesenheit aller freien Salzsäure ein solches Spectrum zukommt, und Aehnliches hat Hammarsten[3]) beobachtet. Freies Hämatoporphyrin und ein Salz desselben können nebeneinander vorkommen, und von dem Mengenverhältniss beider würde die Stärke des Extrabandes abhängen.

---

1) Garrod, a. a. O. **13**. 612. — Stokvis, Tijdschr. a. a. O. 416.

2) Garrod u. Hopkins, Journ. of Physiol. **20**. 128. 1896. — Le Nobel, Pflüger's Archiv **40**. 510. 512. 1887.

3) Le Nobel, Pflüger's Archiv **40**. 523. 1887. — Nencki u. Sieber, Archiv f. exp. Pathol. **24**. 436. — Hammarsten, Skandin. Archiv **3**. 326.

Mit dieser Deutung des Spectrums stehen einige andere Beobachtungen im Einklang. Extrahirt man Harn mit Amylalkohol, so zeigt der Alkohol das 4 bandige alkalische Spectrum, das 5 bandige aber nach Zoja dann und nur dann, wenn der Harn vorher mit Essigsäure oder Salzsäure versetzt war; Salkowski sah an dem Amylalkoholauszug des mit Salzsäure angesäuerten Harns das saure Spectrum. Gegen eine Lösung von alkalischem Hämatoporphyrin in verdünntem Alkohol verhält sich der reine Amylalkohol wie gegen den nativen Harn; war der Amylalkohol aber erst mit verdünnter Salzsäure, dann mit Wasser gewaschen, so bietet er nach Garrod, wenn er mit der Lösung des freien Hämatoporphyrins geschüttelt worden ist, das 5 bandige Spectrum dar. Zoja[1]) beobachtete, dass die Lösung eines Zinkniederschlags in saurem Alkohol beim Uebersättigen mit Ammoniak das saure Spectrum in das 5 bandige alkalische verwandelte.

d. Das neutrale Spectrum. Ein solches stellt das dritte Spectrum der Abbildung dar. Es erscheint aus dem sauren und dem alkalischen zusammengesetzt. In demselben entsprechen α, β u. γ dem stark nach Roth vorgeschobenen sauren Spectrum; α des sauren Spectrums fällt mit α des alkalischen zusammen, γ des sauren Spectrums ist mit β des alkalischen zu einem Band vereinigt, δ im neutralen Spectrum ist das etwas nach Blau gerückte γ des alkalischen Spectrums, ε im neutralen Spectrum hat dieselbe Lage wie δ im alkalischen. In der Abbildung, welche Saillet[2]) von dem neutralen Spectrum giebt, erscheint γ als das zweitheilige β des alkalischen Spectrums. Dieses Spectrum scheint das der Verbindung des Hämatoporphyrins mit einer schwachen Säure oder mit wenig einer starken Säure zu sein.

In Wellenlängen α und $\beta = \lambda$ 625—616, $\gamma = \lambda$ 576—553, $\delta = \lambda$ 540—522, $\varepsilon = \lambda$ 512—486.

Das Bild ist gezeichnet nach dem Spectrum, welches Chloroform darbot, das nach der Vorschrift von Garrod mit der Lösung des Phosphatniederschlags aus Harn in viel concentrirter Essigsäure geschüttelt worden war (C. I. 1. d. S. 574). Ueber das Zustandekommen und die Veränderungen des Spectrums macht Garrod[3]) noch folgende Angaben. Man sieht es in Chloroformlösungen des (sauren) Farbstoffes aus Harn, wenn diese mit Wasser gewaschen und mit etwas Alkohol geklärt worden waren, oder wenn nach freiwilligem Verdunsten des Chloroforms der Rückstand in Alkohol gelöst wurde. Wird das Chloroform mit dem neutralen Spectrum noch weiter mit Wasser gewaschen, so erscheint das alkalische Spectrum. — Auf Zusatz von zweifach saurem Alkaliphosphat zu einer Lösung von neutralem Hämatoporphyrin in verdünntem Alkohol tritt erst das alkalische Spectrum auf, dann, wenn die Lösung bereits stark sauer geworden ist, wieder das neutrale und endlich das saure. — Im Amylalkoholauszug des Harns verwandelt sich das alkalische Spectrum auf Zusatz einer sehr geringen Menge Salzsäure in das neutrale. — Eine Spur Alkali führt nach Garrod das neutrale Spectrum in das alkalische über. Tetrachlorkohlenstoff nimmt aus der Lösung mit dem neutralen Spectrum den Farbstoff sehr leicht auf, aber mit dem alkalischen Spectrum. Saillet sah das neutrale Spectrum bei dem nach seiner Art (C. II. 2. S. 578) dargestellten Farbstoff, sowohl, wenn er in reinem Alkohol oder in reinem Schwefel- oder Essigäther gelöst war, als bei Gegenwart von Essigsäure oder Oxalsäure.

Von der Chloroformlösung, welche die Abbildung geliefert hatte, wurde das Chloroform abgedunstet. Es hinterblieb eine stark essigsaure, schön rosenrothe Flüssigkeit, welche zwar noch ein neutrales Spectrum zeigte, aber mit etwas an-

1) Zoja, Archivio italiano, a. a. O. 5 u. 13. — Salkowski, Ztschr. f. physiol. Ch. **15**. 291. — Garrod, a. a. O. **15**. 115. — Zoja, a. a. O. 25.
2) Saillet, Revue de méd. **16**. 544.
3) Garrod, a. a. O. **17**. 350. — Derselbe, a. a. O. **13**. 610 u. **15**. 112 ff.

derer Lage und Form der Streifen. Es waren α und β etwas mehr nach D zu gerückt, γ besass die frühere Lage und Breite, war aber nicht mehr am linken Rande, sondern in der Mitte am Dunkelsten; δ reichte jetzt bis b und war links abschattirt, ε war etwas schmaler und sehr blass geworden. Nachdem auch die übrige Flüssigkeit verdunstet war, blieb ein kirschrother Rückstand zurück, der sich, wie auch Garrod an solchem Rückstand beobachtete, sehr schlecht in Alkohol löste; er löste sich aber leicht nach Zufügen von Salzsäure. Jetzt war das typische saure Spectrum zu sehen, daneben aber noch δ und ε des neutralen Spectrums (etwas blasser als im neutralen Spectrum) und dieses Spectrum hielt sich wochenlang. Ammoniak rief sofort das gewöhnliche alkalische Spectrum hervor, nach Zusatz von Salzsäure trat aber wieder das zuletzt beschriebene gemischte Spectrum auf.

e. Das metallische Spectrum ist das vierte der Abbildung. Es ist dem des Sauerstoff-Hämoglobins ausserordentlich ähnlich, unterscheidet sich von ihm jedoch dadurch, dass der zweite Streifen, β, dunkler und schmäler ist, als der im Hämoglobinspectrum und mit seinem rechten Rande nicht bis an E heranreicht; α liegt bei D — D 25 E, oder, wenn der Streifen breiter ist, bei C 96 D — D 30 E, β bei D 59 E — D 90 E. In sehr concentrirten Lösungen hat Garrod auch noch einen sehr schmalen blassen Streifen zwischen den beiden dunkleren Bändern gesehen. Ueber die Bildung und die Verwandlung dieses Spectrums vgl. B. 3. S. 561.

In Wellenlängen $\alpha = \lambda$ 586—570, $\beta = \lambda$ 552—533.

Das besondere metallische Spectrum der von Saillet dargestellten Ammonverbindung des Hämatoporphyrins ist S. 562 beschrieben.

f. Obwohl die bis jetzt vorliegenden Erfahrungen über die Abhängigkeit der Spectren von den Verbindungen des Hämatoporphyrins noch nicht ausreichen, sich in allen Fällen eine unanfechtbare Vorstellung von diesen Verhältnissen zu machen, so ist doch folgende Auffassung gestattet oder wenigstens nützlich.

Das alkalische (4 bandige) Spectrum ist das Spectrum des freien Hämatoporphyrins in alkoholischer oder alkalischer Lösung.

Das saure, das alkalische 5 bandige und das neutrale Spectrum sind Spectren der Verbindungen des Farbstoffs mit Säuren. Das alkalische 5 bandige Spectrum tritt auf in der neutralen, von freien Säuren freien Verbindung des Hämatoporphyrins mit einer Mineralsäure. Das saure Spectrum gehört derselben Art der Verbindung in Gegenwart überschüssiger Mineralsäure an. Das neutrale Spectrum, ein aus dem sauren und dem alkalischen Spectrum wirklich oder nur scheinbar combinirtes, wird beobachtet an der Verbindung des Hämataporphyrins mit einer schwachen Säure (Essigsäure) oder geringere Menge Mineralsäure, als zur Herstellung des neutralen Salzes erforderlich sind.

Das metallische Spectrum ist das einer eigenartigen Verbindung des Farbstoffs mit Metall, die verschieden ist von der, welche entsteht, wenn das Hämatoporphyrin in Alkali gelöst ist.

6. Zersetzungen. Beim Erhitzen entwickelt das Hämatoporphyrin, wie das Hämatin, nach Nencki und Sieber, einen dicken

Dampf und den Geruch nach Pyrrol. Es löst sich in warmer rauchender Salpetersäure mit rother Farbe, die Lösung wird darauf grün, blau und gelb; es verhält sich also ähnlich wie der Gallenfarbstoff bei der Gmelin'schen Probe. Von Natriumamalgam, sowie von Eisen und Essigsäure wird es nicht angegriffen, Kochen mit Zinn und Salzsäure in alkoholischer Lösung führt es dagegen in einen Körper über, welcher spectroskopisch grosse Aehnlichkeit mit dem Urobilin besitzt; nach dem Uebersättigen der Reactionsflüssigkeit mit Alkali tritt ein an Skatol erinnernder Geruch auf. — Alle diese Reactionen hat Zoja auch an der Zinkverbindung des Hämatoporphyrins aus Harn wahrgenommen. Saillet[1]) sah bei dem mit Zinn und Salzsäure behandelten Hämatoporphyrin aus Harn einen Streifen in der Lage des sauren Urobilinbandes. In der durch gelbe Salpetersäure grün gewordenen Lösung nahm Saillet zwei Streifen wahr, wie α u. β des sauren Spectrums, aber breiter und deutlicher als diese und ein wenig nach links verschoben (sie könnten α u. β des sauren Bilicyanins gewesen sein); sie verschwinden später. Mit Salzsäure und Kaliumchlorat wird das Hämatoporphyrin aus Harn nach Saillet schnell gelblich grün und die Lösung weist dann ein breites und dunkles Band zwischen F u. G auf, von der mittleren Wellenlänge λ 463.

7. Ueber die Verbindung, in welcher das Hämatoporphyrin im Harn vorkommt, kann die spectroskopische Untersuchung Aufschluss geben. In den meisten Fällen ist am Harn überhaupt kein Spectrum wahrzunehmen; wo aber ein Hämatoporphyrin-Spectrum gesehen wurde, waren die Befunde verschieden. Oefter wurde in Sulfonalharnen das alkalische Spectrum ganz oder theilweise gesehen, so u. A. von Stokvis, Hammarsten, Salkowski, von Garrod auch im gewöhnlichen Harn, seltener das fünfbandige alkalische Spectrum (Copeman, Garrod). Auch das metallische Spectrum ist beobachtet worden, so von Neusser, ferner einmal im Dialysat eines Sulfonalharns von Stokvis und einmal von Hammarsten an einem in starker alkalischer Gährung begriffenen Sulfonalharn. Nach Garrod[2]) ist im Sulfonalharn das Hämatoporphyrin ganz oder theilweise als metallisches zugegen. Eine Verbindung des Hämatoporphyrins, welche das metallische Spectrum besass, hat Garrod (B. 3. S. 563) in Uratsedimenten aufgefunden.

In Uebereinstimmung hiermit stehen die Beobachtungen, welche am Amylalkoholauszug des Harns gemacht wurden; Zoja sah hier blos das

---

1) Zoja, Archivio italiano, a. a. O. 5.; Archives ital. de Biologie, **19**. fasc. 3. — Saillet, Revue de méd. **16**. 547.

2) Salkowski, Ztschr. f. physiol. Ch. **15**. 287 — Garrod, Journ. of Physiol. **15**. 110. — Hammarsten, Skand. Arch. **3**. 336. — Garrod, Edinburgh med. Journ., August 1897. 112 u. a. a. O. **15**. 117.

alkalische Spectrum, das fünfbandige alkalische nur dann, wenn der Harn vor der Extraction mit einer Säure versetzt war; Garrod[1]) traf meist auch nur das vierbandige an, aber auch, wiewohl seltner, am nativen Harn das fünfbandige alkalische.

Das B. 5. d. S. 568 geschilderte Verhalten des zweifach sauren Phosphats zu dem Hämatoporphyrin erklärt, warum es im Harn zumeist als alkalisches zugegen ist. Der Harn selbst verhält sich nicht anders als eine Lösung von zweifach saurem Phosphat. Setzt man normalem Harn salzsaures Hämatoporphyrin zu, so tritt nach Salkowski das alkalische Spectrum auf. Ebenso verhält sich nach Garrod[2]) eine Lösung von Hämatoporphyrin, welche das neutrale Spectrum zeigt, zu Harn; macht man eine Lösung von Hämatoporphyrin in Harn (mit dem alkalischen Spectrum) mit zweifach saurem Alkaliphosphat stark sauer, so sieht man ein aus dem sauren und dem alkalischen zusammengesetztes Spectrum; das wäre, nach meiner Auffassung, das neutrale.

Wenn das fünfbandige alkalische Spectrum das Spectrum einer von überschüssiger Säure freien Verbindung das Hämatoporphyrins mit einer Mineralsäure darstellt, so besteht keine besondere Schwierigkeit, das Auftreten dieses Spectrums im Harn zu erklären.

Die Wahrnehmung des metallischen Spectrums in ammoniakalischem Harn steht im Einklang mit den Beobachtungen Zoja's (B. 3. S. 562) über das Verhalten des Ammoniaks zum Hämatoporphyrin.

Neben dem Hämatoporphyrin selbst enthält der Harn noch ein Chromogen des Farbstoffs.

In Harn, welcher für sich kein Spectrum erkennen lässt, kommt öfter auf Zusatz von Alkali das alkalische, auf Zusatz von Säure das saure Spectrum zum Vorschein. — Fällt man nach Eichholz Fieberharn durch Sättigen mit neutralem Ammonsulphat und löst den Niederschlag in absolutem Alkohol, so sieht man in dieser neutralen Lösung nur einen Streifen in der Lage des Urobilinbandes, zu dem sich auf Zusatz von Säure noch das Band des sauren Hämatoporphyrins zwischen D und E gesellt. — Nach Riva und Zoja werden die amylalkoholischen Auszüge aus Harn beim Stehen dunkler, die Bänder des alkalischen Spectrums werden deutlicher und es tritt der vorher nicht sichtbare Streifen α auf. Saillet[3]) sah in dem bei künstlicher Beleuchtung hergestellten Essigätherauszug des mit Essigsäure versetzten normalen Harns im Sonnenlicht die Menge des Hämatoporphyrins auf das Vierfache steigen.

Da das Hämochromogen (reducirtes Hämatin) durch selbst schwache Säuren zu Hämatoporphyrin zersetzt wird, so könnte man in ihm die Muttersubstanz des Hämatoporphyrins vermuthen. Aber es ist wohl nicht wahrscheinlich, dass dieser leicht Sauerstoff aufnehmende Körper im Harn vorkommt; auch ist sein Spectrum im Harn nicht einmal andeutungsweise gesehen worden.

C. *Nachweis.* Aus der Farbe des Harns lässt sich, wenn er nicht so dunkelroth ist wie Sulfonalharn, kein Schluss auf die Gegenwart des Hämatoporphyrins im Harn oder gar über seine Menge ziehen; der röthliche Schimmer, welchen der Harn öfter besitzt, rührt zumeist vom Uroerythrin her.

---

1) Garrod, Journ. of Physiol. **15.** 113.
2) Salkowski, a. a. O. 286. — Garrod, a. a. O. **15.** 111.
3) A. Eichholz, Journ. of Physiology **14.** 332. 1893. — Zoja, Archivio italiano a. a. O. 32; Archives ital. a. a. O. — Riva u. Zoja, Gazetta med. di Torino, a. a. O. — Saillet, Revue de méd. **16.** 551.

Die spectroskopische Untersuchung giebt auch nur in seltenen Fällen Aufschluss; die allgemeine Verdunkelung des Spectrums durch andere Harnfarbstoffe und der geringe Gehalt des Harns an Hämatoporphyrin erschweren die Wahrnehmung. Manchmal tritt aber hier noch auf Zusatz von viel Salzsäure das saure, auf Zusatz von Alkalihydrat das alkalische Spectrum hervor.

Welche Spectren am nativen Harn beobachtet werden können und wie sie zu deuten sind, ist unter B. 7. auseinander gesetzt. Im normalen Harn sah Garrod[1]) niemals ein Hämatoporphyrinspectrum, bei der Untersuchung mehrerer Hundert pathologischer Harne den Streifen in Roth nur 4 oder 5 mal; das metallische Spectrum ist wegen der allgemeinen Verdunklung des Spectrums durch andere Farbstoffe oft schwer zu sehen, auf Zusatz von Salzsäure tritt aber das saure Spectrum hervor. Die blose Besichtigung ist für die Beurtheilung der Spectren jedoch nicht ausreichend, für eine sichere Beurtheilung derselben ist es unerlässlich, die Lage der Streifen genau festzustellen.

Zum Nachweis des Hämatoporphyrins können zweierlei Verfahrungsweisen dienen, die Fällung des Farbstoffs und die Extraction desselben.

I. Nachweis durch Fällung.

1. Das Verfahren von Garrod[2]) ist nicht nur unter den Fällungsmethoden, sondern überhaupt das beste: obwohl sich in der Regel ein Theil des Hämatoporphyrins der Fällung entzieht, ermöglicht es doch in einfacher Art den Nachweis selbst so geringer Mengen Hämatoporphyrin, wie sie im normalen Harn vorkommen, und liefert zugleich ein reineres Präparat, als andere Methoden. Das Verfahren beruht darauf, dass bei reichlichem Zusatz von Kali- oder Natronlauge zu Harn mit den Erdalkaliphosphaten, offenbar in chemischer Bindung, das Hämatoporphyrin ausfällt. Auf 100 cc Harn verwendet man dazu 20 cc einer 10 procentigen Lauge. Der Niederschlag wird gewaschen und mit säurehaltigem Alkohol behandelt, wobei der Farbstoff in Lösung geht. Diese Lösung zeigt das saure Spectrum des Hämatoporphyrins, bei alkalischer Reaction das alkalische, auch wenn der Harn direkt ein anderes Spectrum (B. 7) aufwies. Zur weiteren Reinigung entzieht man den Farbstoff seiner Lösung durch Chloroform.

Das Hämatoporphyrin ist nach diesem Verfahren schon in 150—350 cc pathologischem und in 200—400 cc — 1 Liter normalem Harn nachweisbar, doch thut man jedenfalls gut, grössere Mengen in Arbeit zu nehmen. Der Harn muss mit der Lauge einen so starken Phosphatniederschlag geben, als normaler Harn; man untersucht also vor der Fällung eine Probe im Reagensglas darauf hin. Ist der Niederschlag viel geringer, was jedoch nur sehr selten der Fall ist, so fügt man dem Harne vor der Fällung eine Lösungvon Calciumphosphat in Essigsäure hinzu, das man durch Fällen von Chlorcalcium mit Natriumphosphat im Reagensglas bereitet. Es bedarf nur geringer Mengen des Phosphats, ein zu starker Niederschlag erschwert seine weitere Verarbeitung und schmälert die Ausbeute er-

---

1) Garrod, Edinburgh med. Journ. August 1897. 112.
2) Garrod, Journ. of Physiol. **17**. 349; **13**. 603.

heblich. Bei der Fällung mit der Lauge ist man nicht an die von Garrod angegebene Concentration derselben gebunden, es kommt nur darauf an, dass man dem Harn auf 100 cc mit der Lauge 2 g Natriumhydrat hinzufügt. Aber die Lauge lässt sich nicht durch Ammoniak ersetzen; denn obwohl dieses auch einen Phosphatniederschlag giebt, so enthält er doch selbst bei Verwendung eines an Hämatoporphyrin reichen Harns nur Spuren oder gar keinen Farbstoff. Man lässt den Niederschlag sich absetzen, hebt die überstehende Flüssigkeit ab und bringt erst dann den Niederschlag auf das Filter.

Der Niederschlag ist dann zu waschen; das kann in gewöhnlicher Weise geschehen, schneller aber kommt man zum Ziele, wenn man nach Garrod den Niederschlag wiederholt vom Filter spritzt, in Wasser vertheilt und auf dasselbe Filter zurückbringt. Will man das Hämatoporphyrin möglichst frei haben von andern Farbstoffen, so wäscht man so lang, bis die Flüssigkeit farblos abläuft. Man erleidet dabei aber einen Verlust an Farbstoff und handelt es sich um den Nachweis nur geringer Mengen Hämatoporphyrin, so ist das Auswaschen nicht zu weit zu treiben oder ganz zu unterlassen; in diesem Fall ist der Niederschlag aber nach dem unter d beschriebenen Verfahren weiter zu behandeln, bei welchem der Farbstoff aus der essigsauren Lösung in Chloroform übergeführt wird. Der gewaschene Niederschlag ist, je nach der Menge des gefällten Hämatoporphyrins rosen- bis purpurroth, besitzt aber oft auch einen Stich ins Gelbe oder Braune; in starkem Licht zeigt er das alkalische Spectrum.

Die Art der weiteren Verarbeitung des Niederschlags hängt davon ab, ob man das Hämatoporphyrin überhaupt nur nachweisen will und zwar blos durch das saure Spectrum oder auch durch andere und ob es darauf ankommt, das Hämatoporphyrin von anderen Harnfarbstoffen, namentlich dem Urobilin, zu befreien.

a. Für den Nachweis des Hämatoporphyrins durch das saure Spectrum allein genügt es, den gewaschenen Phosphatniederschlag auf dem Filter in salzsäurehaltigem Alkohol zu lösen. Man legt das Filter zunächst, um es einigermaassen vom Wasser zu befreien, auf Fliesspapier, oder verdrängt das Wasser durch Alkohol und übergiesst dann den Niederschlag auf dem Trichter mit nicht viel mehr als 10 cc Alkohol, dem reichlich Salzsäure zugesetzt ist. Durch Zerkleinern des Niederschlags mit einem Glasstab beschleunigt man die Lösung. Damit das Volumen der Lösung und damit ihre Verdünnung nicht zu gross wird, benutzt man das Filtrat, um den auf dem Filter gebliebenen Rest des Niederschlags zu lösen; nöthigenfalls fügt man der Flüssigkeit noch etwas Salzsäure hinzu. Die Lösung besitzt eine rothe Farbe mit einem Stich ins Gelbe oder Braune und zeigt das saure Spectrum, daneben gewöhnlich auch noch das Urobilinspectrum. Durch Zusatz von Ammoniak oder einem andern Alkali kann man jedoch das alkalische Spectrum nicht hervorrufen, denn dadurch fällt der Farbstoff zugleich mit dem Phosphat wieder aus. Es ist vielmehr nach b oder c zu verfahren.

b. Eine Lösung, an welcher man ausser dem sauren auch das alkalische und das metallische Spectrum zur Erscheinung bringen kann, erhält man, wenn man den Niederschlag, wie bei a, mit schwefelsäurehaltigem Alkohol behandelt. Nur hat man durch fleissiges Zerreiben des Niederschlags und Verwendung einer genügenden Menge Schwefelsäure dafür zu sorgen, dass nicht etwa ein grösserer Theil des Phosphats der Zerlegung entgeht.

Die Basis des Phosphats bleibt dabei als Sulphat auf dem Filter und das Filtrat stellt eine Lösung des Farbstoffes allein in saurem Alkohol dar. Sie weist das saure Spectrum auf. Fügt man Ammoniak im Ueberschuss hinzu, so entsteht abermals ein Niederschlag, der nun aber aus den im Alkohol unlöslichen Ammonsalzen der vorhandenen Säuren besteht; das Filtrat zeigt das alkalische Spectrum.

Das metallische Spectrum kann man zu Gesicht bekommen, wenn man diesem alkalischen Filtrat ein wenig einer Lösung von Chlorzink in ammoniakalischem Alkohol hinzufügt, einen entstehenden Niederschlag durch Zusatz von noch mehr Ammoniak in Lösung zu bringen sucht, und wenn dies nicht gelingt, ihn abfiltrirt.

Es verschwindet dann das alkalische Spectrum sehr langsam, oft erst im Verlauf mehrerer Stunden vollständig, und an seine Stelle tritt das metallische, daneben ist meist auch das Urobilinspectrum zu sehen.

c. Man kann auch aus der salzsauren Lösung des Phosphatniederschlags in salzsäurehaltigem Alkohol den Farbstoff nach einem von Garrod und von Zoja[1]) angegebenen Verfahren in Chloroform überführen und so vom Urobilin trennen. Zu diesem Zweck vermischt man die alkoholische Lösung in einem kleinen Scheidetrichter mit ungefähr 10 cc Chloroform; löst sich dieses nicht ganz, so bewirkt man die Lösung durch Zusatz von noch etwas Alkohol. Dann fügt man, ohne viel zu schütteln, ungefähr das doppelte Volumen Wasser zu, worauf sich eine Lösung von Hämatoporphyrin in Chloroform absetzt. Das Chloroform wird möglichst bald von der übrigen Flüssigkeit getrennt, ein- oder zweimal mit Wasser geschüttelt und durch ein doppeltes trockenes Filter filtrirt. Die rosenrothe Lösung zeigt das alkalische Spectrum, ausnahmsweise das saure; ist dies der Fall, so kann man nach Garrod durch Schütteln des Chloroforms mit Wasser das alkalische Spectrum hervorrufen. Verdunstet man das Chloroform und löst den braunen Rückstand in Alkohol, so erhält man eine Lösung mit dem alkalischen Spectrum. Zusatz von Mineralsäure bringt sofort das saure Spectrum hervor; beim Behandeln der alkoholischen Lösung mit ammoniakalischer Chlorzinklösung nach b entsteht das metallische Spectrum. Die mit dem Chloroformauszug hergestellten Spectren unterscheiden sich von den direkt erhaltenen dadurch, dass sie meistens ganz frei sind von dem Urobilinspectrum.

Die Ueberführung des Hämatoporphyrins aus der sauren alkoholischen Lösung in Chloroform hat nur den Uebelstand, dass sie nicht immer vollkommen gelingt. Ist das Hämatoporphyrin ganz in das Chloroform übergegangen, so ist die rückständige Flüssigkeit gelb gefärbt, anderenfalls röthlich gelb. Es ist nicht bekannt, wovon dieser häufige Misserfolg abhängt.

d. Eine vollständige Ueberführung des Hämatoporphyrins in das Chloroform gelingt nach folgendem, gleichfalls von Garrod[2]) angegebenen Verfahren. Die nach a bereitete Lösung des Phosphatniederschlags in salzsäurehaltigem Alkohol wird mit Ammoniak übersättigt, wobei mit dem Phosphat wieder das Hämatoporphyrin ausfällt; und der Niederschlag in der Flüssigkeit direkt wieder in Essigsäure gelöst. Ebenso leicht kommt man nach meiner Erfahrung zum Ziele, wenn man den Phosphatniederschlag gleich in Essigsäure löst. In beiden Fällen widersteht aber ein Rest farbstoffhaltigen Niederschlags der Lösung. Das Filtrat der essigsauren Lösung wird dann, ohne Zusatz von Alkohol, mit Chloroform ausgeschüttelt. Das Chloroform setzt sich leicht mit rein rother oder bräunlich rother Farbe ab und enthält neben Essigsäure alles Hämatoporphyrin, während die überstehende Flüssigkeit gelb ist. Beim Verdunsten des Chloroforms bleibt zunächst eine schön rothe, öfters auch gelbliche essigsaure Lösung zurück, und bringt man auch diese zur Trockne, so erhält man nicht, wie bei dem Verdunsten der oben erwähnten Chloroformlösungen einen braunen, sondern einen rosenrothen Rückstand, der sich nicht immer leicht in reinem Alkohol, sondern erst in salzsäurehaltigem Alkohol löst.

Dieses Verfahren hat vor dem anderen, ausser der vollständigeren Gewinnung des Farbstoffs noch den Vorzug, dass man den Phosphatniederschlag nicht so sorgfältig mit Wasser zu waschen braucht, als bei den anderen Methoden. Die Chloroformlösung zeigt die vier Streifen des alkalischen Spectrums, daneben oft auch den Urobilinstreifen, und wenn der Phosphatniederschlag in einem grossen Ueberschuss starker Essigsäure gelöst war, auch das neutrale Spectrum. An der Lösung des Abdampfungsrückstands in salzsäurehaltigem Alkohol sind neben dem sauren Spectrum mit der gewöhnlichen Lage seiner Streifen, vom alkalischen Spectrum noch die beiden nach Violett zu gelegenen, aber blass, zu sehen. (Vgl. B. 5. d. S. 568).

---

[1]) Garrod, a. a. O. **13.** 603. 1893. — Zoja, Archives ital. de Biol. **19.** fasc. 3. 1893.

[2]) Garrod, a. a. O. **17.** 350.

Zur Entfernung der letzten Reste Urobilin in den so gewonnenen Hämatoporphyrinlösungen könnte man von einem Verfahren Gebrauch machen, welches Le Nobel sowie Zoja zur Trennung beider Farbstoffe empfohlen haben. Schüttelt man nämlich eine urobilinhaltige saure wässrige Lösung von Hämatoporphyrin mit Chloroform, so geht das Urobilin in das Chloroform über, während das Hämatoporphyrin im sauren Wasser zurückbleibt. Die Scheidung ist aber nur eine unvollkommene; denn wenn das Chloroform schon kein Urobilin mehr aufnimmt, ist nach Garrod[1]) die wässrige Lösung doch nicht ganz frei vom Urobilin.

Bei der Anstellung der spectroskopischen Untersuchung ist zu beachten, dass die Lösungen in solcher Concentration oder Dicke der Schicht untersucht werden müssen, dass die Flüssigkeit ausgesprochen roth erscheint. Unter Befolgung der oben (unter a) gegebenen Vorschrift für die Herstellung der Lösung genügt eine Dicke der Schicht von 5—10 cm. Concentrirte Lösungen zeigen das Spectrum deutlicher. in schwächeren ist es nur unvollständig oder nur andeutungsweise und gar nicht zu sehen. Das gilt insbesondere für das alkalische Spectrum, welches bei gleicher Concentration der Lösung, schwächer ist als das saure und das metallische.

Für den spectroskopischen Nachweis genügt in den meisten Fällen das Auftreten des sauren Spectrums, da dieses mit keinem sonst bekannten verwechselt werden kann. Zur Sicherung des Befundes kann, wenn es nöthig ist. die Darstellung des alkalischen und die des metallischen Spectrums dienen.

Andere Farbstoffe können bei dem Verfahren von Garrod die Beobachtung in mehr oder minder erheblichem Grade erschweren. Bei Gegenwart von viel Uroerythrin im Harn ist der Phosphatniederschlag schmutzig grün, doch verschwindet diese Färbung beim Waschen des Niederschlags wieder. Enthielt der Harn Blut, so tritt neben dem Spectrum des Hämatoporphyrins auch das des Hämatins auf. War Chrysophansäure vorhanden, so besitzt der Phosphatniederschlag nach Garrod[2]) eine schön bläulich rothe Farbe, die sich nicht wegwaschen lässt. Die Lösung des Niederschlags in saurem Alkohol ist nicht roth, sondern gelb, sie weist aber dabei noch das saure Spectrum des Hämatoporphyrins auf, wenn welches vorhanden ist; auf Zusatz von Ammoniak tritt aber eine störende breite Absorption in der Mitte des Spectrums auf. Chloroform nimmt die Chrysophansäure leichter auf als das Hämatoporphyrin und so lassen sich beide Farbstoffe noch einigermaassen trennen.

2. Andere Fällungsarten. a. Die Fällung des Harns mit den Bleiacetaten, welche Mac Munn zur Entdeckung des Hämatoporphyrins im Harn führte, ist schon darum nicht geeignet, weil diese Salze alle Farbstoffe des Harns fällen und eine nachträgliche Trennung derselben in dem mit säurehaltigem Alkohol bereiteten Auszug nöthig machen. Die später von Salkowski und von Hammarsten[3]) ausgeführte Fällung des Harns mit Salzen der alkalischen Erden leidet zwar nicht an diesem Uebelstand, wenigstens nicht in dem Maasse, wie das Verfahren von Mac Munn, ist aber mit anderen Mängeln behaftet, so dass auch dieses Verfahren dem von Garrod namentlich in Bezug auf die Empfindlichkeit weit nachsteht.

Salkowski fällte Sulfonalharn mit Chlorbaryum und Barytwasser, oder mit Chlorcalcium und Ammoniak oder Natriumcarbonat, Hammarsten erst mit Baryumacetat, dann durch abwechselnden Zusatz von Baryumacetat und Natrium-

[1]) Le Nobel, Pflüger's Archiv **40**. 514. — Zoja, Archivio it. a. a. O. 4; Archives it. de Biologie a. a. O. 4. — Garrod, a. a. O. **13**. 618.

[2]) Garrod, a. a. O. **13**. 603.

[3]) Salkowski, Ztschr. f. physiol. Ch. **15**. 294. 1891. — Hammarsten, Skandin. Arch. **3**. 322. 1892.

carbonat, bis der Niederschlag nicht mehr roth war; der Acetatniederschlag enthielt den meisten Farbstoff. Die Niederschläge wurden erst mit Alkohol gewaschen und darauf mit säurehaltigem Alkohol ausgezogen (von Salkowski in der Wärme). Hammarsten führte den im alkoholischen Auszug enthaltenen Farbstoff in Chloroform über.

Beide Forscher haben so Hämatoporphyrin nachgewiesen, aber der saure alkoholische Auszug der Barytniederschläge enthält neben dem Hämatoporphyrin noch viel braunen Farbstoff (Urobilin), welcher den spectroskopischen Nachweis des Hämatoporphyrins in hohem Grade erschweren kann; aus Fieberharn, der bei der Untersuchung nach dem Verfahren von Garrod reichlich Hämatoporphyrin enthielt, habe ich mittelst der Barytmethode nicht einmal Spuren davon gewinnen können. In der Unzulänglichkeit des Verfahrens von Salkowski ist es begründet, dass Nakarai bei der Untersuchung des Harns von 144 Kranken das Hämatoporphyrin nur bei 10 nachweisen konnte. Aus einem solchen Gemisch lässt sich das Hämatoporphyrin durch das Phosphatverfahren noch einigermaassen rein gewinnen; das ist aber umständlich und überflüssig. Hedin[1]) zog den Farbstoff aus seiner schwach salzsauren Lösung in verdünntem Alkohol mit Aether aus. Viel besser gelangt man nach meiner Erfahrung mit der Barytmethode zum Ziele, wenn man den Barytniederschlag so oft mit Wasser auskocht, bis die Flüssigkeit nur noch schwach gelb gefärbt ist, und ihn dann längere Zeit auf dem Wasserbade mit verdünntem Natriumcarbonat digerirt. Der röthlich braune alkalische Auszug zeigt dann bei hinlänglicher Concentration das alkalische Spectrum, auch bei Fieberharnen, welche bei Weitem nicht so viel Hämatoporphyrin enthalten als Sulfonalharne. Dem Abdampfungsrückstand der alkalischen Lösung lässt sich das Hämatoporphyrin durch schwefelsäurehaltigen Alkohol entziehen.

b. Sättigt man einen Harn mit Chlorammon, so fällt nach Hopkins[2]) neben dem Ammonurat auch Hämatoporphyrin aus, aber wenig Urobilin; Ammonsulphat fällt dagegen das Hämatoporphyrin, namentlich aus angesäuertem Harn, sehr mangelhaft, das Urobilin aber vollständig. Die Fällung mit Chlorammon ist zwar weniger geeignet zum Nachweis des Hämatoporphyrins, aber das verschiedene Verhalten der beiden Farbstoffe zu den angeführten Ammonsalzen giebt einen einfachen Beweis dafür an die Hand, dass das pathologische Urobilin von Mac Munn kein einheitlicher Körper ist, sondern ein Gemisch von Hämatoporphyrin und Urobilin darstellt.

c. Aus dem Dialysat von Sulfonalharn wie aus dem Harn selbst kann man nach Stokvis auch durch wiederholtes Fällen mit (3—4 Vol. absolutem) Alkohol das Hämatoporphyrin darstellen. Der äusserst geringe feinflockige Niederschlag löst sich zum grössten Theil in Wasser, der Rest nahezu ganz in Lauge. — Aus dem Abdampfungsrückstand von Sulfonalharn nimmt nach Salkowski[3]) Alkohol nur Urobilin auf, aus dem mit Alkohol gewaschenen Rückstand Wasser Hämatoporphyrin-Alkali.

II. Nachweis durch Extraction.

Mehrfach gelang es nicht, dem nativen oder dem mit Säure versetzten Harn durch die verschiedensten Lösungsmittel (Aether, Essigäther, Amylalkohol, Chloroform, Benzol, Petroläther) Hämatoporphyrin zu entziehen (Stokvis, Salkowski, Hammarsten). Dagegen haben Binnendijk und Stokvis aus dem mit Phosphorsäure ver-

---

[1]) Nakarai, Arch. f. klin. Med. 58. 170. 1897. — S. G. Hedin, Hygiea 1892; Jahresb. f. Thierch. 1892. 532.

[2]) Hopkins, Guy's Hosp. Reports 50. 357. 1893.

[3]) Stokvis, Nederl. Tijdschr. voor Geneesk. 1889. 2. 414; Jahresb. f. Thierch. 1893. 593. — Salkowski, a. a. O. 295.

setzten Harn mit Aether Hämatoporphyrin ausschütteln können und haben sich dieses Verfahrens zum Aufsuchen des Farbstoffs im Harn bedient. Nach Garrod nehmen Chloroform sowie Essigäther nur sehr geringe Mengen Hämatoporphyrin aus Harn auf, viel weniger als der von Mac Munn[1]) und später von Riva und Zoja für diesen Zweck empfohlene Amylalkohol. Auch den Tetrachlorkohlenstoff hat Garrod als ein gutes Extractionsmittel des Hämatoporphyrins aus Lösungen desselben befunden.

1. Verfahren nach Riva und Zoja[2]).

Schüttelt man Harn mit Amylalkohol, so geht neben Urobilin und Uroerythrin auch das Hämatoporphyrin in Lösung. Es wird daran erkannt, dass der Auszug das alkalische Hämatoporphyrin-Spectrum zeigt. Von den Begleitern lässt sich das Hämatoporphyrin durch Fällen desselben als Zinkverbindung trennen Das Verfahren ist leicht auszuführen, die Extraction ist aber unvollständig, kleine Mengen des Farbstoffs können sich dem Nachweis entziehen und darum ist das Verfahren nicht so vortheilhaft wie das von Garrod.

Der Versuch gelingt nur dann, wenn reiner Amylalkohol verwendet wird. Käuflicher Amylalkohol verhält sich sehr ungleich und ist oft unwirksam (durch fractionirte Destillation gereinigter Alkohol vom Siedepunkte 130—131^0 genügt dazu).

Es werden 400—500 cc Harn in einem Cylinder mit 50—60 cc Amylalkohol sanft geschüttelt, wonach sich der Alkohol in Form einer sehr beständigen Emulsion auf der Oberfläche ansammelt. Bei längerem Stehen und zeitweiligem Rütteln des Gefässes trennt sich von der Emulsion eine kleine Schicht klarer Lösung, welche sich mit einer Pipette abheben lässt. Schneller vollzieht sich die Scheidung nach meiner Erfahrung, wenn man die Emulsion auf ein mit Amylalkohol befeuchtetes Filter bringt. Der im Filtrat auf einer wässerigen Lösung schwimmende, gelb gefärbte Alkohol wird zu den Versuchen benützt. Den Harn vorher anzusäuern, ist überflüssig; doch befördert nach Garrod[3]) Zusatz einiger Tropfen Essigsäure zum Harn die Extraction, ohne das Spectrum des Auszugs zu beeinflussen.

Vor dem Spectroskop zeigt der Auszug das alkalische Spectrum, wie Garrod bestätigt, in vielen Fällen mit der grössten Deutlichkeit. Die Gegenwart der anderen Farbstoffe, deren Spectren schon vor F beginnen und sich weit nach Roth hin erstrecken können, beeinträchtigt selten wesentlich die Wahrnehmung des Spectrums und die Ortsbestimmung seiner Streifen, doch kann es geschehen, dass man von dem Spectrum nur den Streifen in Roth wahrnimmt. Zur weiteren Sicherung des Befundes empfiehlt Garrod den Zusatz einer sehr kleinen Menge Salzsäure zu dem Amylalkohol; es tritt dann das an den zwei

---

1) Stokvis, Tijdschr. a. a. O. 2. 414. — Salkowski, a. a. O. 291. — Hammarsten, a. a. O. 322 u. 334. — Stokvis, a. a. O. 409. — Garrod, a. a. O. **15**. 115. — Mac Munn, Journ. of Physiol. **6**. 37. 1885.

2) A. Riva u. L. Zoja, Gazetta medica di Torino, Anno 43, No. 22, 1892. — Zoja, Archives italiennes de Biologie **19**. fasc. 3. 1893; Archivio italiano di clinica medica, Anno 32. 1893.

3) Garrod, a. a. O. **15**. 113.

Streifen in Roth kenntliche neutrale Spectrum auf. — Setzt man dem Auszug eine ammoniakalische Lösung von Chlorzink in Alkohol zu, so erscheint neben dem Spectrum des Urobilinzink das metallische Spectrum.

Ist der Auszug so arm an Hämatoporphyrin, dass sein Spectrum nicht zu sehen ist, so soll man ihn nach Riva und Zoja mit etwas starkem Ammoniak schütteln. Die kleine, etwa 1 cc betragende Menge wässriger Flüssigkeit, die sich am Boden des Reagensglases absetzt, enthält alles Hämatoporphyrin. Die braune Lösung zeigt das alkalische Spectrum und auf Zusatz einer Lösung von Chlorzink nach längerer Zeit das metallische.

An dem Auszug von Harn, der mit Salzsäure oder Essigsäure versetzt war, beobachteten Riva und Zoja auch das fünfbandige alkalische Spectrum. Salkowski bei Harn nach Zusatz von Salzsäure auch einmal das saure. Garrod erhielt wiederholt mit dem Harn direkt auch das fünfbandige alkalische Spectrum.

Zur Trennung des Hämatoporphyrins von den anderen Farbstoffen als Zinkverbindung fügt man nach Zoja[1]) dem amylalkoholischen Auszuge auf 15—20 cc 2—3 Tropfen einer Mischung von gleichen Theilen Ammoniak und absolutem Alkohol zu, klärt, wenn nöthig, durch die erforderliche kleine Menge Alkohol, und setzt dann wenige Tropfen einer Lösung von 1 g Chlorzink in 100 cc absolutem Alkohol zu. Statt dessen kann man auch sogleich die von Nencki und Rotschy zum Nachweis von Urobilin empfohlene Lösung von 1 g Chlorzink in 100 g stark ammoniakalischem Alkohol verwenden. Ich finde, dass es nicht nöthig ist, mit so grosser Vorsicht zu verfahren. Die Zinkverbindung scheidet sich ganz allmählich in röthlich braunen, im durchfallenden Licht granatrothen Flocken ab.

Durch Waschen des Niederschlages mit Amylalkohol, mit Alkohol und mit Aether lässt sich das beigemengte Urobilin vollständig entfernen. Der im Alkohol suspendirte Niederschlag bietet das metallische Spectrum dar, ebenso seine Lösung in Alkalihydrat oder -Carbonat. Die schön violettrothe Lösung in säurehaltigem Alkohol besitzt nach guter Reinigung des Niederschlags keine Spur von Fluorescenz und zeigt das saure Spectrum; beim Uebersättigen der Lösung mit Alkali erscheint das alkalische Spectrum.

Zeigt die Lösung des Zinkniederschlages (oder einer Metallverbindung überhaupt) noch den Urobilinstreifen, so kann man diesen beseitigen, wenn man die Lösung stark ansäuert und mit einigen Tropfen rauchender Salpetersäure gelinde erwärmt.

2. Verfahren von Saillet.

Saillet[2]) schüttelt den Harn, nachdem er ihn auf 100 cc mit 10 Tropfen Eisessig versetzt hat, mit dem gleichen Volumen Essigäther.

Bei normal saurem Harn ist der Zusatz einer Säure unnöthig, aber er beschleunigt die Extraction und macht sie vollständiger. Man muss stark ansäuern, aber mit Essigsäure und nicht mit einer Mineralsäure. Das Volumen des Essigäthers soll mindestens gleich dem des Harns sein, weil sich dann (bei normalem Harn) keine Emultion bildet. Wenn man eine grosse Menge Harn verarbeitet, so behandelt man ihn in einzelnen Portionen mit demselben Essigäther und ergänzt nur sein Volumen um den Theil, der vom Harn aufgenommen wird.

Der Essigäther nimmt orangerothen Farbstoff auf und der Auszug weist dann das neutrale Hämatoporphyrin-Spectrum auf, auch dann, wenn ganz frischer Harn in rothem Licht dieser Behandlung unterzogen wird. Neben dem präformirten Hämatoporphyrin enthält der Auszug noch 3 mal so viel in der Form

---

1) Zoja, Archivio ital. a. a. O.
2) Saillet, Revue de méd. 16. 543.

eines Chromogens, das im Sonnenlicht zu Hämatoporphyrin wird. Daneben hat der Aether dem Harn noch das Chromogen des Urobilins und andere Substanzen entzogen.

Beim Schütteln des Essigätherauszugs mit 5 proc. Salzsäure geht das Hämatoporphyrin, und wenn es vorhanden ist, auch Urobilin in diese über; die saure malvenrothe Flüssigkeit zeigt das saure Spectrum des Hämatoporphyrins. Man neutralisirt mit Ammoniak, säuert mit Essigsäure an und schüttelt mit Schwefeläther, welcher das Hämatoporphyrin aufnimmt und das Urobilin zurücklässt. Schüttelt man den Aethyläther darauf mit wenig 5 proc. Salzsäure, so erhält man eine schöne rubinrothe Lösung, die man nahezu mit Ammoniak neutralisirt, wobei das Hämatoporphyrin ausfällt. Die Flüssigkeit wird braungelb mit violettem Reflex und das Hämatoporphyrin setzt sich in einigen Stunden als amorphes, braunes Pulver ab. Es wird auf einem Filter mit Wasser, und wenn nöthig, noch mit Chloroform gewaschen.

D. *Darstellung.* Die Methoden zum Nachweis des Hämatoporphyrins laufen alle auf die Darstellung des Farbstoffs hinaus. Sie werden aber nur so weit fortgeführt, bis man den Farbstoff an seinem Spectrum erkennt und man verzichtet auf eine weitere Reinigung desselben. Einen Versuch zur Gewinnung des reinen Farbstoffes selbst hat Hammarsten[1]) ausgeführt.

Der Barytniederschlag (C. I. 2. S. 575) aus einem Sulfonalharn wurde mit angesäuertem Alkohol ausgezogen, der Auszug mit Chloroform und Wasser behandelt, wobei der Farbstoff in das Chloroform überging. Der beim freiwilligen Verdunsten des Chloroforms bleibende Rückstand löste sich nur theilweise in kaltem Alkohol; der darin unlösliche Antheil war in dünnerer Schicht rothbraun, in dickerer Schicht braun mit einem Stich ins Violette. Er war in Wasser ganz unlöslich, löste sich in Alkali in der Kälte nur schwer, besser in der Wärme, aber unter Zersetzung. In sehr verdünnter Salzsäure oder Schwefelsäure war er unlöslich, in Salzsäure von 20—25 % löste er sich dagegen mit schön blaurother Farbe. In heissem Alkohol löste er sich leicht und beim Erkalten schieden sich Nadeln vom Aussehen des salzsauren Hämatoporphyrins von Nencki und Sieber ab; in Chloroform, Aceton sowie Essigäther löste sich der Körper äusserst leicht und beim Verdunsten krystallisirte er auch hier. Die saure, die alkalische und die zinkhaltige Lösung besassen die Farbe solcher Hämatoporphyrinlösungen und boten die entsprechenden typischen Spectren dar, die Lösung in Alkohol aber das fünfbandige alkalische Spectrum. Das Auftreten dieses Spectrums macht es wahrscheinlich, dass der Körper die Verbindung des Hämatoporphyrins mit einer Säure darstellte; da die Löslichkeitsverhältnisse aber andere waren, als die des salzsauren Hämatoporphyrins, so kann diese Säure nicht Salzsäure gewesen sein.

Eine Substanz, welche zwar nicht krystallisirte, aber nach den Löslichkeitsverhältnissen mit der von Hammarsten dargestellten identisch zu sein schien, erhielt Hedin[2]) gleichfalls aus einem Barytniederschlag. Der mit salzsäurehaltigem Alkohol bereitete Auszug wurde mit Wasser verdünnt und nach Zusatz von Ammoniak bis zur schwach sauren Reaction mit Aether geschüttelt, welcher den Farbstoff aufnahm. Salzsäure entzog den Farbstoff wieder dem Aether und aus dieser salzsauren Lösung schied sich ein Theil des Farbstoffes allmählich in braunen Flocken aus.

Trennung des Hämatoporphyrins vom Urobilin. Das Hämatoporphyrin lässt sich noch am Vollkommensten abscheiden durch

---

1) Hammarsten, Skandin. Archiv 3. 325.

2) Hedin, Hygiea 1892; Jahresber. f. Thierchemie 1892. 532.

Barytsalze in alkalischer Lösung; von dem Urobilin bleibt ein um so grösserer Theil in Lösung, je verdünnter die Lösung war. Ob sich aber der Hämatoporphyrinniederschlag vollständig vom Urobilinbaryum trennen lässt, ist noch fraglich. Andere in Vorschlag gebrachte Methoden verbürgen kein besseres Resultat.

Es sind folgende:

1. Sättigen des Harns mit Chlorammon oder mit Ammonsulphat; durch Chlorammon wird vorwiegend das Hämatoporphyrin gefällt, durch Ammonsulphat das Urobilin (Hopkins, C. I. 2. b. S. 576).

2. Die Darstellungsweisen von Garrod (C. I. 1. S. 572) und von Riva und Zoja (C. II. S. 577).

3. Schütteln einer sauren wässrigen Lösung beider Farbstoffe mit Chloroform, wobei das Urobilin in das Chloroform übergeht, das Hämatoporphyrin in der wässerigen Lösung bleibt (C. I. S. 575).

4. Schütteln der Lösung beider Farbstoffe in saurem Essigäther mit Wasser führt das Urobilin in das Wasser über; der essigsauren Lösung entzieht Schwefeläther oder Essigäther das Hämotoporphyrin (Saillet C. II. 2. S. 578).

5. Zerstören des Urobilins durch Salpetersäure (Zoja, C. II. 1. S. 578).

II. Urorubrohämatin und Urofuscohämatin.

Im Harn eines Leprosen hat Baumstark[1]) zwei eigenthümliche Farbstoffe aufgefunden, Urorubrohämatin und Urofuscohämatin. Der Harn war anfangs tief dunkelroth und wurde allmählich braunroth, gegen das letale Ende rein dunkelbraun, fast schwarz. Der rothe Harn hatte ein Spectrum wie das des Sauerstoffhämoglobins oder wie das metallische Hämatoporphyrin-Spectrum.

Der Harn wurde der Dialyse unterworfen, wobei eine gelbliche, wie normaler Harn gefärbte Flüssigkeit mit den Salzen durch die Membran ging, während ein brauner Schlamm zurückblieb. Dieser Schlamm löste sich leicht in Natronlauge und liess auf Säurezusatz das Urofuscohämatin fallen, während ein prachtvoll magentarother Farbstoff, das Urorubrohämatin, in Lösung blieb. Der letztere schied sich aus, als die rothe Lösung der Dialyse unterworfen wurde. Die Ausbeute betrug in 12 Tagen gegen 2 g beider Farbstoffe.

Baumstark ertheilte dem Urorubrohämatin die Formel $C_{68}H_{94}N_8Fe_2O_{30}$, dem Urofuscohämatin die Formel $C_{68}H_{106}N_8O_{26}$. Nach meiner Berechnung stimmt das Ergebniss der Analyse sehr gut zu den Formeln $C_{36}H_{50}N_4FeO_{16}$ und $C_{34}H_{54}N_4O_{13}$, weniger gut, aber noch befriedigend, zu $C_{32}H_{45}N_4FeO_{14}$ und $C_{16}H_{26}N_2O_6$. Die letzten zwei Formeln gestatten einen bequemen Vergleich mit denen des Hämatins und des Hämatoporphyrins.

---

1) Baumstark, Berichte d. chem. Gesellsch. 7. 1170; Pflüger's Archiv 9. 568. 1874.

Das Urorubrohämatin bildet frisch gefällt dunkelbraune Flocken, über Schwefelsäure getrocknet eine blauschwarze Masse. Es ist unlöslich in Wasser, Alkohol und Aether, Chloroform, Benzol, Schwefelkohlenstoff, Kochsalzlösung. In Alkalien (auch Ammoniak) löst es sich mit braunrother Farbe, die beim Verdünnen schön granatroth wird; Säuren fällen den Farbstoff nicht, die Lösung wird aber bläulich-roth; durch Dialyse fällt der Farbstoff. Beim Eindampfen seiner sauren wie der alkalischen Lösung bleibt der Farbstoff unverändert zurück. In phosphorsauren und kohlensauren Alkalien löst sich der Farbstoff mit magentarother Farbe; Säuren fällen nicht und ändern die Farbe nicht. Aus den alkalischen Lösungen wird der Farbstoff durch Kalk- und Barytsalze nicht gefällt. Er löst sich in säurehaltigem Alkohol, sehr schwierig in verdünnter Schwefelsäure, mit violetter Farbe. Angesäuerte Kochsalzlösung nimmt ihn mit rother Farbe auf. Keine der Lösungen zeigt Dichroismus, auch nicht auf Zusatz von Zinksalz.

Die saure Lösung zeigt ein schmales Absorptionsband, vor D rechts an D grenzend, und ein breites hinter D, wie saure Hämatoporphyrinlösung. Beim Verdünnen verschwindet das schmale Band zuerst. — Die alkalische Lösung zeigt ein schmales Band rechts von D, ein zweites solches auf E, ein breites rechts von F nahe dieser Linie und eines rechts von G, ohne dass das Blau zwischen den letzteren absorbirt wird; alle vier Bänder nehmen beim Verdünnen gleichmässig ab.

Das Urofuscohämatin stellt frisch gefällt dunkelbraune Flocken, trocken eine pechglänzende schwarze Masse dar, ist unlöslich in Wasser, Alkohol, Aether, Chloroform, Benzol, Säuren, neutraler und saurer Kochsalzlösung. Es löst sich in Alkalien (auch Ammoniak) mit brauner Farbe, die sich beim Verdünnen nicht ändert; Säuren, sowie Kalk- und Barytsalze, fällen aus diesen Lösungen den Farbstoff sofort in braunen Flocken. Phosphorsaure und kohlensaure Alkalien, sowie säurehaltiger Alkohol lösen den Farbstoff mit brauner Farbe. Die Lösungen ändern ihre Farbe beim Verdünnen nicht; sie zeigen keinen Dichroismus, auch nicht auf Zusatz von Zinksalz. Im Spectrum erscheint ein Schatten zwischen D und E und ein zweiter vor F, der nur mit Schwierigkeit zu erkennen ist.

Beide Farbstoffe können mit concentrirter Natronlauge oder Salzsäure gekocht werden, ohne sich zu verändern. Beide liefern bei der trockenen Destillation ein Destillat, welches, wie die von Hoppe-Seyler untersuchten Hämatin-Derivate, sehr schön die Pyrrol-Reactionen zeigt. Häminkrystalle lassen sich aus den Farbstoffen nicht darstellen.

III. Uroerythrin.

Der von Prout als rosige Säure, von Golding Bird als Purpurin bezeichnete Farbstoff der ziegelrothen Uratsedimente ist von F. Simon zuerst Uroerythrin benannt worden. Die Kenntniss seiner Eigenschaften ist nach den dürftigen älteren, namentlich von Heller herrührenden Untersuchungen in neuerer Zeit namentlich von Zoja, von Riva und von A. Garrod[1]) erheblich erweitert worden.

A. *Vorkommen.*

Das Uroerythrin ist ein sehr gewöhnlicher Harnbestandtheil, es findet sich ungemein oft in normalen Harnen gelöst in geringer Menge; in vielen namentlich fieberhaften Krankheiten und bei Erkrankungen der Leber kann es beträchtlich vermehrt sein.

---

[1]) F. Simon, Handb. der angewandten med. Chemie **1**. 342. 1840. — Heller, dessen Archiv [2] **3**. 361. 1854 (letzte Angaben). — L. Zoja, Centralbl. f. d. med. Wiss. 1892. 705; Archives italiennes de Biologie **19**. fasc. 3. 1893; Archivio ital. di clinica med. Anno **32**. 1893. — A. Riva, Gazetta med. di Torino, Anno **43**. No. 1 u. 47. 1892; Clinica medica di Torino, Estratto dall' Opera le Scuole italiane di clinica medica 1894. — Archibald E. Garrod, Journ. of Physiology **17**. 439. 1895.

Es findet sich auch in blassen Harnen; diese zeigen dann in dicker Schicht einen Stich in's Rothe. Im Harnsediment Gesunder, mit Ausnahme der Kinder, findet es sich häufig (Garrod[1]). Unter normalen Verhältnissen tritt es in grösserer Menge auf nach starker Muskelthätigkeit, nach reichlichem Schweiss. Selbst sehr geringfügige Verdauungsstörungen steigern seine Menge. Unmässigkeit im Genuss von Speisen und alkoholischen Getränken haben eine beträchtliche Vermehrung im Gefolge.

Unter pathologischen Verhältnissen ist das Uroerythrin vermehrt bei Krankheiten, in welchen eine Circulationsstörung in der Leber stattfindet (Zoja), so bei Erkrankungen der Leber selbst (Schwellung und Zunahme der Consistenz der Leber, Cirrhosis nach Alkoholmissbrauch und nach Malaria, Neubildungen) oder bei Herzfehlern und Lungenaffectionen (Pneumonie, Pleuritis), beim Bestehen von Unterleibstumoren; im Zusammenhang damit steht die Abnahme des Uroerythrins nach der Paracentese bei Ascites. In grösserer Menge erscheint es ferner bei acutem Gelenkrheumatismus, Influenza, Gicht, nach Hirnhämorrhagien (Riva). In nicht mit Lungenerkrankungen complicirten Fällen von Typhus findet sich nur wenig (Riva, Zoja). Bemerkenswerth ist die starke Abnahme und selbst das völlige Verschwinden desselben bei Lebercirrhose unter Milchdiät (Riva, Zoja). In einem Fall von Hämoglobinurie sah Riva nach dem Verschwinden des Hämoglobins viel Uroerythrin auftreten. Bei Nephritis kommt es fast nie vor.

Neben viel Uroerythrin findet sich gewöhnlich auch viel Urobilin vor (Riva).

B. *Eigenschaften.*

1. Das isolirte Uroerythrin ist in trocknem Zustand amorph, ziegel- oder krebsroth, von etwas anderem Tone als die rothen Uratsedimente; sehr reines zeigt nach Garrod einen Stich in Blau (pink). Es besitzt ein sehr starkes Färbungsvermögen und man erhält deshalb aus Sedimenten nur wenig. Es besitzt, selbst in der Wärme, nur einen schwachen Geruch (Garrod). Beim Verbrennen hinterlässt es keine Asche, auch kein Eisen (Garrod).

Aus Chloroform scheidet sich der Farbstoff nach Riva beim Verdunsten mit Andeutungen von krystallinischer Beschaffenheit ab, aber bei langsamem Verdunsten der alkoholischen Lösung an der Luft erhielt Garrod kleine runde Körnchen, welche keine Spur einer krystallinischen Structur besassen.

2. Es löst sich am Besten in Amylalkohol (Riva, Zoja), nicht viel schlechter in Essigäther (Garrod), weniger in absolutem Alkohol und in Chloroform, in geringer Menge in Wasser. Verdünnter Alkohol löst es besser als Wasser, aber schlechter als starker Alkohol. Aether löst es auch, aber schlechter als Alkohol, und der Farbstoff zersetzt sich in der Lösung leicht, selbst im Dunklen. Eine Spur Säure erhöht die Löslichkeit selbst in solchen Lösungsmitteln, welche den Farbstoff leicht aufnehmen (Garrod).

Sättigen einer Lösung mit Ammonsulphat oder Chlorammon in Gegenwart von harnsauren Salzen (Harn) schlägt den Farbstoff in Verbindung mit dem Ammonurat nieder (Garrod[2]). Aus Lösungen, welche Erdalkaliphosphate enthalten (Harn), wird es auf Zusatz von Alkalihydrat mit diesen, aber in verändertem Zustande (grün) abgeschieden.

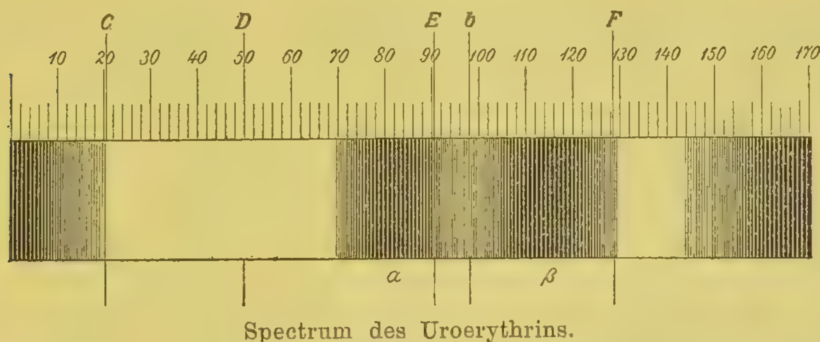
1) Garrod, Edinburgh med. Journal, August 1897. 114.

2) Garrod, Proceedings of the Roy. Soc. 55. 398. 1894 u. Journ. of Physiol. 17. 443.

3. Die Lösungen besitzen je nach dem Gehalt an Farbstoff eine goldorange bis feuerrothe Farbe; verdünnte Lösungen weisen nach Garrod auch einen schwachen Stich in Blau auf. Sie zeigen keine Fluorescenz, nach Garrod auch nicht im Lichte einer Geissler'schen Röhre, und nehmen auch, zum Unterschied von Urobilin, auf Zusatz von ammoniakalischer Zinklösung keine Fluorescenz an (Riva, Zoja). Die Lösungen der reinen Substanz sind neutral oder eher etwas sauer (Garrod).

4. Spectrum. Eine sehr concentrirte Lösung absorbirt das ganze brechbarere Ende des Spectrums. die Absorption hört ziemlich scharf bei λ 552 (D 56 E) auf (Garrod). In verdünnteren Lösungen erscheint ein von Mac Munn[1]) entdecktes doppelbandiges Spectrum. Von den beiden Streifen hat nach Zoja *α* ungefähr die Lage λ 550 — λ 525, *β* die Lage λ 510 — 484, nach Garrod kommt ihnen die Stellung

Fig. 13.



Spectrum des Uroerythrins.

λ 546 — λ 520 und λ 506 — λ 481 zu (D 70 E — E 13 F und E 44 F — F 9 G). Die Ränder sind stark verwaschen und die Grenzen deshalb nicht scharf zu bestimmen. Beide Bänder sind durch einen Schatten mit einander verbunden. Das rechte Band ist etwas dunkler als das linke. Spectren der Verbindungen und der Zersetzungsprodukte bei diesen (5, 7, 8).

Bei einigermaassen concentrirten Lösungen reicht die allgemeine Verdunkelung des violetten Endes des Spectrums bis zum rechten Rande von *β*. Der Streifen *β* fällt nahezu zusammen mit *γ* des Urobilins und *δ* des alkalischen Hämatoporphyrins. Mit der Concentration der Lösungen werden die Streifen zwar dunkler, jedoch nicht breiter (Riva), aber auch die dunkelste Stelle der Streifen ist nicht schwarz (Garrod), wie beim Urobilin. Andere Absorptionsstreifen rühren von fremden Farbstoffen her.

5. Verbindungen. Das Uratsediment enthält das Uroerythrin in chemischer Verbindung mit Harnsäure, was, wie Garrod

[1]) Mac Munn, Proceed. of the Roy. Soc. **35**. 399. 1883.

zeigt, daraus hervorgeht, dass es ein anderes Spectrum besitzt als das freie oder das gelöste Uroerythrin. Es ist nur ein einziger am rechten Rande verwaschener Absorptionsstreifen, und zwar bei λ 589 — λ 543 (D — D 70 E) vorhanden.

Man sieht dieses Band im reflectirten Licht, sowie im durchfallenden, wenn man das auf geöltem Papier befindliche Sediment untersucht. Das Band ist weder an freiem, mit einem weissen Pulver gemischten Uroerythrin im auffallenden, noch an dem auf eine Glastafel aufgetragenen Uroerythrin im durchfallenden Licht wahrzunehmen. — Die Lösung des Uratsediments in heissem Wasser bietet dagegen wie der Harn direkt das Spectrum des freien Farbstoffes dar (Riva, Zoja). Das mit Wasser gewaschene (ungelöste) Sediment giebt an absoluten Alkohol, an Amylalkohol, Aether, Chloroform kein Uroerythrin ab (Riva); mit einer Spur Säure versetzter verdünnter Alkohol zieht aber Farbstoff aus (Zoja).

Die Ammonsalze (Chlorid, Sulphat), welche beim Sättigen des Harns mit denselben die Harnsäure fällen, schlagen auch vorhandenes Uroerythrin mit nieder. Wiewohl das Uroerythrin aus dem Harn durch Bleiacetat sowie durch Chlorbaryum gefällt wird, so sind doch keineswegs alle Niederschläge, welche Uratlösungen mit Metallsalzen geben, als Verbindungen des Farbstoffs mit den Metallen anzusehen.

Riva und Zoja haben die Wahrnehmung gemacht, dass eine amylalkoholische Uroerythrinlösung beim Schütteln mit Lösungen von Calcium-, Baryum-, Blei- oder Zinnsalzen in verschiedener Nuance rothe und so lichtbeständige Niederschläge geben, wie die Uratsedimente. Diese Niederschläge sind jedoch, nach Garrod, keine Verbindungen des Metalls mit dem Farbstoff, sondern nichts Anderes als die Urate selbst. Der amylalkoholische Auszug aus dem Sediment oder dem Harn enthält etwas Harnsäure und diese wird dann auf Zusatz der genannten Salze zugleich mit dem Farbstoff gefällt. Versetzt man nach Garrod eine alkoholische Lösung nach seinem Verfahren dargestellten (harnsäurefreien) Uroerythrins mit Chlorbaryum, so entsteht ein schwach gefärbter Niederschlag von Chlorbaryum der sich auf Zusatz von Wasser wieder vollständig löst; ein Tropfen einer farblosen Uratlösung giebt jetzt einen schönen, rothen Niederschlag.

Versetzt man eine Lösung von Uroerythrin in absolutem Alkohol mit wenig Tropfen einer gesättigten Bleiacetatlösung, so entsteht ein spärlicher flockiger in Wasser unlöslicher Niederschlag von dunkel rosenrother Farbe. Eine im Licht gebleichte ebensolche Lösung giebt bei der gleichen Behandlung einen farblosen Niederschlag.

6. Das Uroerythrin ist ausgezeichnet durch seine ausserordentlich geringe Lichtbeständigkeit; die Lösungen bleichen sehr schnell in zerstreutem oder chemisch activem Licht und werden, wenn der Farbstoff rein ist, ganz farblos. Mit der Farbe verschwindet auch das Spectrum. Im Dunkeln oder im chemisch indifferenten Licht behalten die Lösungen ihre Farbe selbst einige Tage lang (Riva). Im trockenen Zustand und in seiner Verbindung mit Harnsäure ist das Uroerythrin viel haltbarer.

In den gebleichten Lösungen lässt sich die Färbung nach Zoja weder durch Reductions-, noch durch Oxydationsmittel wieder herstellen. — In uribilinhaltigen Lösungen ist das Band β dunkler, als in reinen, und verschwindet α im Lichte, während ein Streifen von der Lage des Bandes β, Urobilin γ, übrig bleibt.

7. Das feste Uroerythrin wird durch Kalilauge sofort dunkelgrün, und dann bald zerstört (Thudichum[1]), und ebenso

1) Thudichum, Journ. of the chem. Soc. [2.] **13**. 399. 1875.

verhalten sich die rothen Uratsedimente und Lösungen des Uroerythrins. Die grün gewordene amylalkoholische Lösung zeigt kein Absorptionsspectrum; im Lichte wird sie entfärbt, aber nicht so schnell, wie die ursprüngliche Lösung. Gegen Ammoniak ist es viel beständiger.

Wie die Kalilauge, verhalten sich auch die Natronlauge und, nach Riva, alle alkalisch reagirenden Salze, mit Ausnahme des Ammoniaks. Eine mit Ammoniak versetzte Lösung behält in chemisch indifferentem Licht ihre rothe Farbe viele Tage lang. Neutralisirt man die grüne Lösung, so wird sie nicht wieder roth. — Der schmutzig grüne Phosphatniederschlag, den man auf Zusatz von viel Lauge zu einem an Uroerythrin reichen Harn erhält, bewahrt seine Farbe stundenlang unter der Flüssigkeit.

Manchmal wird eine Uroerythrinlösung auf Zusatz von Lauge violett, dann indigblau, grün und darauf schnell farblos; die farbigen Lösungen zeigen Absorptionsstreifen. Riva, welcher diese Erscheinung zuerst beobachtet hat, vermuthet, dass es sich um Varietäten des Farbstoffes handelt. Da aber in den früheren Stadien Ansäuern mit Essigsäure das ursprüngliche Spectrum wiederherstellt, so könnten nach Garrod auch Verbindungen des Farbstoffs mit Alkali vorliegen. Der Farbenwechsel dauert nur einen Theil einer Minute. In einem früheren Stadium ist ein Band bei λ 672 — λ 642,5 (auf C im äussersten Ende des Roth) zu sehen, die violette Lösung bietet zwei denen des Indigos ähnliche Bänder dar. An der grünen Lösung ist das violette Ende des Spectrums verdunkelt.

Setzt man zu einer amylalkoholischen Lösung wenig Natronlauge, so scheidet sich nach Garrod zwar viel von dem grünen Produkt ab, der Alkohol behält aber doch noch eine rein grüne Färbung. Behandelt man den Abdampfungsrückstand des Alkohols mit Schwefelsäure oder Salzsäure, so erhält man eine carminrothe Lösung, von denen die schwefelsaure ein Band bei λ 582,5 — λ 549 (D 10 E — D 63 E) aufweist, die salzsaure ein Band bei λ 608 — λ 549 (C 69 D bis D 63 E) aufweist. In beiden Fällen wird die Lösung beim Verdünnen mit Alkohol grün, auf Zusatz von viel Säure carminroth und aus dieser Lösung nimmt Chloroform grünen Farbstoff auf.

8. Säuren ertheilen einer Uroerythrinlösung eine andere Farbe und zerstören es zuletzt.

Die Farbenänderung tritt nach Garrod nicht immer auf, manchmal wird das Uroerythrin gleich zersetzt. Nach Heller löst es sich in concentrirter Schwefelsäure mit dunkelrother Farbe; gegen concentrirte Salzsäure verhält es sich ähnlich.

Nach Garrod wird eine Uroerythrinlösung durch concentrirte Schwefelsäure prachtvoll carminroth, Chloroform nimmt viel von diesem Farbstoff auf und die Lösung zeigt dann ein dunkles Band bei λ 586 — λ 552 (C 95 D — D 58 E), ähnlich dem des Sediments, und manchmal noch ein zweites, schwächeres in Grün. Beim Verdünnen dieser Lösung mit Alkohol tritt die ursprüngliche Farbe und das ursprüngliche Spectrum wieder auf. — Salzsäure macht eine Lösung des Uroerythrins rosenroth, die concentrirte Lösung zeigt ein schlecht begrenztes Band ungefähr bei λ 608 — λ 517 (C 62 D — E 23 F). Der rothe Farbstoff wird von Chloroform aufgenommen, der Abdampfungsrückstand löst sich in Alkohol mit Farbe und Spectrum der ursprünglichen Substanz. — Phosphorsäure färbt Uroerythrinlösung lachsroth, Chloroform nimmt den Farbstoff auf; beim Verdünnen treten Farbe und Spectrum des Uroerythrins auf, aber das Spectrum ist sehr deutlich nach Roth verschoben und das blaue Ende des Spectrums viel weniger dunkel. — Die Lösungen werden grün und zuletzt farblos, die Reactionen gelingen nicht immer.

Die Säuren zersetzen das Uroerythrin verschieden leicht, Schwefelsäure und Salzsäure leichter als Phosphorsäure (Garrod), Essigsäure schlechter als eine

Mineralsäure, Weinsäure und Citronensäure langsamer als Essigsäure; bei Gegenwart der organischen Säuren bleibt eine Uroerythrinlösung in chemisch inactivem Licht oder im Dunklen selbst tagelang unverändert (Riva). Gewöhnliches Licht beschleunigt die Zersetzung.

9. In ätherischer Lösung zersetzt sich das Uroerythrin leicht (Riva). Verdunstet man eine Chloroformlösung auf dem Wasserbade, so löst sich der Rückstand kaum, wenn überhaupt, wieder in Alkohol; beim Verdunsten des Chloroforms in gelinderer Wärme wird jedoch das Uroerythrin unverändert wieder gewonnen.

10. Durch Oxydations- und Reductionsmittel wird das Uroerythrin nach Garrod entfärbt, auch im Dunklen.

Salpetersäure entfärbt fast augenblicklich, Wasserstoffsuperoxyd langsamer, schnell aber in Wasserbadwärme. Von den Reductionsmitteln wirkt Zink und Salzsäure am Schnellsten.

11. Ein Chromogen des Uroerythrins kommt im Harn nicht vor (Zoja). — Die von Mester[1]) ausgesprochene Vermuthung, dass das Uroerythrin ein Skatolfarbrtoff sein könne, findet in den seither näher bekannt gewordenen Eigenschaften des Uroerythrins keine Stütze.

C. *Darstellung.*

Bei der Darstellung geht man am Besten von dem rothen Uratsediment aus, das sich aus stark abgekühltem Harn in grösseren Mengen absetzt, als bei gewöhnlicher Temperatur. Von den beiden in Verwendung gekommenen Verfahrungsweisen, der von Garrod und der von Zoja und Riva, liefert die von Garrod das reinere Präparat.

I. Nach Garrod. a. Das Sediment von mehreren Tagen wird auf einem Filter gesammelt, noch feucht vom Filter abgespritzt, dann, wenn nöthig, noch unter Zusatz von Wasser in gelinder Wärme gelöst und die Lösung mit Chlorammonium gesättigt. Es schlägt sich alles Uroerythrin in Verbindung mit dem ausfallenden Ammonurat nieder. Der flockige Niederschlag wird abfiltrirt, mit gesättigter Salmiaklösung vom Filter abgespült, wieder abfiltrirt und das Verfahren so oft wiederholt, bis das Filtrat nicht mehr (von Urobilin) gelb gefärbt ist. Das Sediment besitzt jetzt eine reinere rosenrothe Färbung als vorher, zeigt aber noch ein, der Verbindung von Hämatoporphyrin mit Metall angehöriges Absorptionsband bei D. Man lässt das Filter mit dem Niederschlag mehrere Stunden im Dunklen in warmem Alkohol liegen, wobei der Niederschlag leichter als das Sediment Uroerythrin an den Alkohol abgiebt. Man filtrirt, verdünnt den Alkohol mindestens mit dem doppelten Volumen Wasser, und wäscht zur Entfernung der letzten Reste Hämatoporphyrin die Lösung so oft mit Chloroform, bis dieses sich nicht mehr

---

1) R. Mester, Ztschr. f. physiol. Ch. 12. 143. 1888.

färbt; ist die Lösung verdünnt genug, so nimmt dieses kein Uroerythrin auf. Setzt man jetzt einige Tropfen Essigsäure zu, so entzieht das Chloroform der Lösung das Uroerythrin schnell und vollständig. Das Chloroform wird dann mit Wasser gewaschen und im Dunklen in gelinder Wärme (B. 9.) verdunstet; der Rückstand löst sich dann leicht in Alkohol. Das schnelle Verbleichen des Uroerythrins im Licht bietet ein Mittel, den Farbstoff auf seine Reinheit zu prüfen; die Lösung soll dann ganz farblos sein.

Es darf kein Sediment verwendet werden, das sich nach dem Gebrauch von Rheum oder Senna abgeschieden hat. — Um die Menge des Sediments zu vermehren, darf man dem Harn keine Essigsäure zusetzen, weil sich sonst das Uroerythrin beim Sättigen mit Salmiak nicht mit, sondern neben dem Ammonurat niederschlägt. — Beim Auflösen des Sediments darf man gerade nur so weit erwärmen, dass Lösung erfolgt, weil sich sonst das Uroerythrin nur schlecht in Alkohol löst. — 100 Theile Wasser lösen bei 10° 33, bei 20° 37 Theile Salmiak. — Beim Waschen der neutralen Flüssigkeit geht manchmal schon Uroerythrin in Lösung; meist ist eine zu geringe Verdünnung mit Wasser daran schuld.

b. Zur Darstellung lässt sich auch an Uroerythrin reicher Harn, aus dem sich kein Sediment abgesetzt hat, verwenden. Der Harn wird mit Salmiak gesättigt und mit dem Niederschlage verfahren, wie oben angegeben; aber das Produkt ist minder rein und namentlich mit Hämatoporphyrin verunreinigt. Bei der spontanen Abscheidung von Uratsedimenten bleibt das Hämatoporphyrin im Harn gelöst.

II. Zoja und Riva waschen das Uratsediment auf dem Filter mit eiskaltem Wasser, was sehr schlecht ausführbar ist, weil das Sediment schleimig aufquillt und das Filter bald ganz verstopft. Darauf befreien sie das Sediment vom fremden Farbstoff dadurch, dass sie es wenigstens unter Aethylalkohol einige Zeit liegen lassen. Nach Riva soll man es in derselben Weise auch mit Aether und Chloroform waschen. Es wird dann in warmem Wasser gelöst und die Lösung mit Amylalkohol geschüttelt (der durch fraktionirte Destillation gereinigt ist). Der Amylalkohol nimmt das Uroerythrin auf und aus der wässrigen Lösung kann sich beim Erkalten farblose oder doch fast farblose Harnsäure krystallinisch abscheiden. Der Amylalkohol bildet mit der wässrigen Lösung eine Emulsion, aus welcher sich der Alkohol nur sehr langsam absetzt; eine Trennung beider Flüssigkeiten kann man aber nach meiner Erfahrung leicht bewerkstelligen, wenn man die Emulsion mit dem unvermeidlichen Theil wässriger Lösung auf ein mit Amylalkohol benetztes Filter bringt; im Filtrat sammelt sich der Alkohol auf der wässrigen Lösung als völlig klare Schicht an. Der Amylalkohol wird dann im Dunklen oder in chemisch indifferentem Licht verdunstet. Das Präparat ist nicht rein, sondern, wie Garrod (B. 5.) gezeigt hat, noch mit Urat verunreinigt.

D. *Nachweis.*

Im Uratsediment macht sich das Uroerythrin meist schon durch seine rothe Farbe kenntlich. Färbt es sich in zweifelhaften Fällen auf Zusatz von Lauge nicht schmutzig grün, so kann man es nach C. II behandeln.

Wenn das Sediment vor dem Auflösen in Wasser durch Behandeln mit Alkohol genügend gereinigt war, so wird sich das Uroerythrin in dem amylalkoholischen Auszug ohne besondere Schwierigkeit an seiner Farbe, seinem Spectrum und dem schnellen Verbleichen im Licht erkennen lassen.

Wichtiger ist der Nachweis des Uroerythrins im Harn selbst. An dem Farbstoff reicher Harn zeigt vor der Abscheidung eines Sedi-

ments eine eigenthümliche matt orangerothe Färbung, die man leicht wieder erkennt, wenn man sie einmal gesehen hat. Zum sicheren Nachweis des Uroerythrins dient das Spectrum des Harns und die Extraction des Harns mit Amylalkohol.

Wenn der Harn reich an Uroerythrin ist, so kann er nach Riva in dicker Schicht das Spectrum des freien Uroerythrins darbieten. Von ausschlaggebender Bedeutung ist aber nur der Streifen α, oder ein Schatten an seiner Stelle, da ein Streifen in der Lage von β auch von Urobilin oder Hämatoporphyrin herrühren kann. Für diese Untersuchung genügt eine Schicht in der Dicke von 10—12 Ctmtr. Ein negativer Ausfall der Beobachtung beweist jedoch die Abwesenheit des Farbstoffs nicht.

Um das Uroerythrin aus dem Harn in Amylalkohol überzuführen, soll man nach Riva 300—500 cc Harn mit 50—60 cc Alkohol schütteln (C. II.), von Harnen, die reich an Uroerythrin sind, genügt auch eine geringere Menge. Saurer Harn lässt sich besser extrahiren als neutraler; ein Ansäuern des Harns mit Essigsäure ist trotzdem zu vermeiden, weil das Uroerythrin zerstört wird und auch eine grössere Menge Urobilin in Lösung geht. Man filtrirt die Gallert durch ein mit Amylalkohol benetztes Filter oder klärt durch wenig Aethylalkohol. Der Amylalkohol enthält nicht blos das Uroerythrin, sondern auch Urobilin und Hämatoporphyrin, welche auf die Farbe, das Spectrum und die Lichtbeständigkeit der Lösung von Einfluss sind. Eine reiche Orangefarbe macht die Gegenwart des Uroerythrins schon sehr wahrscheinlich. Bei der spectroskopischen Untersuchung ist daher auch nicht der Hauptwerth auf die Gegenwart des ganzen Uroerythrinspectrums zu legen, sondern nur auf den Streifen α, da ein Band von der Lage des Streifens β vom Urobilin und Hämatoporphyrin herrühren kann. Ist α sichtbar und verschwindet dieses Band bei der Belichtung, so ist die Gegenwart des Uroerythrins erwiesen. Mit dem Verschwinden des Streifens α wird die Lösung blasser, braucht sich aber, wegen der Gegenwart der anderen Farbstoffe, nicht völlig zu entfärben. Eine Abscheidung des Uroerythrins durch Zusatz eines Erdalkali- oder Metallsalzes empfiehlt sich nicht, weil dabei auch das Hämatoporphyrin ausfällt.

Von anderen Mitteln ist noch die Abscheidung der Harnsäure durch Sättigen des Harns mit Chlorammon (C. I.) passend. Der Umstand, dass Harn mit viel Uroerythrin auf reichlichen Zusatz von Lauge einen schmutzig grünen Phosphatniederschlag giebt, eignet sich nicht zum Nachweis geringer Mengen des Farbstoffs.

IV. Urorosein.

Der Farbstoff ist von Nencki und Sieber im Harn aufgefunden und später nur noch von Rosin[1]) untersucht worden.

A. *Vorkommen.*

Das Urorosein kommt nach Nencki und Sieber nicht als solches, sondern als Chromogen im Harn vor, und entsteht aus diesem erst nach Zusatz einer Mineralsäure, nach Rosin unter gleichzeitiger Oxydation, in kurzer Zeit. Es findet sich nach Rosin in geringer Menge in jedem normalen Harn, nach Garrod und Hopkins nur manchmal, ferner nach Rosin reichlicher namentlich bei

1) M. Nencki u. N. Sieber, Journ. f. prakt. Ch. [2] 26. 333. 1882. — H. Rosin, Centralbl. f. klin. Med. 1889. 510; Deutsche med. Wochenschr. 3. 1893. 51.

Consumptionskrankheiten, nach Garrod[1]) oft auch im Harn Chlorotischer. Bei Pflanzenkost tritt es in grösserer Menge auf als bei Fleischkost (R), sehr viel enthält der Harn der Pferde und noch viel mehr der der Rinder (R.)

Nencki und Sieber vermissten es im normalen Harn, wiesen es aber nach bei Diabetes, Chlorose, Osteomalacie, Nephritis, Typhus, Carcinoma oesophagi, Ulcus ventriculi, Perityphlitis, und Rosin in vermehrter Menge bei Carcinom der verschiedensten Organe, bei Magenerweiterung und anderen erheblicheren Magenerkrankungen, perniciöser Anämie, selten bei hochgradiger einfacher Chlorose, bei Typhus im späten Stadium und bei hochgradiger Lungentuberkulose. — Einen Farbstoff von denselben Löslichkeitsverhältnissen haben Brandl und Pfeiffer[2]) in einem melanotischen Harn aufgefunden; er unterschied sich aber dadurch vom Urorosein, dass er Eisen enthielt und ein anderes Spectrum darbot (einmal den Urobilinstreifen, weil er mit Urobilin verunreinigt war und einmal zwei Streifen, deren Dunkelheitsmaximum nach der Bestimmung von G. Krüss bei λ 586,1 und bei λ 535,6 lagen).

B. *Eigenschaften.*

1. Der Farbstoff. Das Urorosein löst sich mit rother Farbe in Wasser, verdünnten Mineralsäuren und vielen organischen Säuren (R), in Aethyl- und in Amylalkohol, schwer in Essigäther; Aether, Chloroform, Benzol, Schwefelkohlenstoff nehmen es aus seinen wässrigen Lösungen nicht auf, wohl aber Amylalkohol. Die Lösungen färben Wolle.

2. Die alkoholische Lösung weist einen schmalen aber scharf begrenzten Absorptionsstreifen auf λ 557 (D 48 E) auf.

In concentrirten Lösungen lässt der Farbstoff nur Roth und Orange durch, absorbirt das Licht also ähnlich wie Indigroth; beim Verdünnen der Uroroseinlösung verschwindet aber die Verdunkelung des violetten Endes des Spectrums und es bleibt dann der schmale Streifen in Grün übrig, während das Indigroth-Spectrum beim Verdünnen der Lösung im Ganzen blasser wird und kein isolirtes Band zurücklässt.

Fuchsin zeigt bei starker Verdünnung dieselbe Farbennuance, doch liegt der Absorptionsstreifen mehr nach Violett. Käufliche Fuchsin-Sulfosäure weist in alkoholischer Lösung genau den gleichen Streifen auf, wie das Urorosein, obwohl beide Farbstoffe nicht identisch sind.

3. Ammoniak, die fixen Alkalihydrate und die kohlensauren Alkalien entfärben die rothe Lösung sofort, diese salzartigen Verbindungen lösen sich nach Rosin in Wasser, Aethyl- und Amylalkohol, Aether und Chloroform. Mineralsäuren machen den Farbstoff, ohne Mitwirkung von Oxydationsmitteln (R) sofort wieder frei und der Farbstoff geht beim Schütteln der Lösung (in Amylalkohol, Aether, Chloroform) mit der Säure in diese über; organische Säuren zerlegen aber die Verbindung nicht.

4. Das Urorosein ist sehr unbeständig.

---

[1]) Rosin, Virchow's Arch. **123**. 556. — Garrod u. Hopkins, Journ. of Physiol. **20**. 135. 1896. — Garrod, Edinburgh med. Journal, August 1897. 116.
[2]) J. Brandl u. L. Pfeiffer, Ztschr. f. Biologie **26**. 375.

Oxydirende Substanzen zerstören den Farbstoff (R.) — Eine Lösung in Aethyl- oder Amylalkohol verblasst in wenig Stunden (R.). — Zinkstaub entfärbt die säurehaltige alkoholische Lösung gleichfalls sofort; das farblose Filtrat färbt sich aber beim Stehen an der Luft bald wieder roth und zeigt dann den charakteristischen Absorptionsstreifen. — Harne, welche durch Salzsäure schön rosa geworden, verblassen bei gewöhnlicher Temperatur schon nach wenig Stunden. Ebenso verschwindet der Farbstoff beim Verdunsten der wässrigen oder alkoholischen Lösung, wobei braune Harztropfen hinterbleiben. Auch die Fäulniss zerstört ihn schnell.

5. Das Chromogen krystallisirt nach Rosin beim Fällen der concentrirten alkoholischen Lösung mit Aether in farblosen durchsichtigen Nadeln, welche sich leicht in Alkohol und in Wasser lösen, aber nicht in Aether oder Chloroform. Durch die Bleiacetate wird es unvollständig gefällt; das Bleisalz ist in Alkohol löslich. Die wässrige oder alkoholische Lösung, sowie die Krystalle selbst werden in Berührung mit einer Mineralsäure und einem Oxydationsmittel (Chlor) roth. Die reine Substanz giebt beim Behandeln mit Salzsäure und Chlorbaryum keinen Niederschlag von Baryumsulphat und wäre danach keine Aetherschwefelsäure.

C. *Darstellung.* I. Des Farbstoffs. Nach Nencki und Sieber werden 50—100 cc Harn mit 5—10 cc 25proc. Schwefelsäure oder auch Salzsäure versetzt. Bei Gegenwart des Farbstoffs nimmt der Harn in einigen Minuten eine röthliche bis schön rosenrothe Färbung an. Der Harn wird dann mit einigen cc Amylalkohol nur wenig und gelinde geschüttelt, so dass sich keine Emulsion von Amylalkohol und Harn bildet und der Alkohol abgehoben. Die Scheidung des Amylalkohols erreicht man auch leicht, wenn man die Emulsion auf ein mit Amylalkohol befeuchtetes Filter bringt (Huppert).

Concentrirtere Lösungen erhält man in folgender Weise. Es werden 1—3 *l* uroroseinhaltiger Harn auf flachen Schalen im Wasserbad schnell auf die Hälfte eingedampft, die Flüssigkeit, nachdem sie auf etwa 30° erkaltet ist, mit Salzsäure oder verdünnter Schwefelsäure angesäuert, in den Harn entfettete Schafwolle gelegt und die Flüssigkeit mit essigsaurem Natron im Ueberschuss versetzt, wonach der Farbstoff von der Wolle fixirt wird. Die sorgfältig mit Wasser gewaschene Wolle wird an der Luft getrocknet und mit absolutem Alkohol, dem etwas Schwefelsäure zugesetzt ist, ausgekocht. Die so gewonnenen Lösungen sind verhältnissmässig die reinsten und auch die haltbarsten; sie verblassen zwar auch allmählich, zeigen aber selbst noch nach Wochen den Absorptionsstreifen.

II. Darstellung des Chromogens. 1. Pferde- oder besser Rinderharn wird nach Rosin mit Bleizucker in Substanz gesättigt und das Filtrat mit Ammoniak im Ueberschuss versetzt, wobei das Chromogen grossentheils, aber nicht vollständig, gefällt wird. Die beiden Bleiniederschläge werden nach dem Trocknen bei ungefähr 70° so oft mit Alkohol ausgezogen, als die Lösung auf Zusatz von Salzsäure und einer Spur Chlor (Chlorkalk oder Chlorwasser) noch roth wird. Die alkoholischen Auszüge werden mit Schwefelwasserstoff vom Blei befreit, im Wasserbad concentrirt und dann fractionirt mit Aether gefällt, wobei sich Salze, ein gelber Farbstoff in öligen Tropfen und ein in Chloroform löslicher harzartiger Körper abscheiden. In Lösung befinden sich dann noch neben dem Chromogen und etwas gelbem Farbstoff Phenole, die sich durch Extraction der zur Trockne gebrachten Substanz mit Aether entfernen lassen. Die rückständige Substanz wird dann in möglichst wenig Alkohol gelöst und mit dem 8—10fachen Vol. Aether versetzt, worauf das Chromogen auskrystallisirt. Durch mehrfaches Umkrystallisiren lässt es sich rein erhalten.

2. Nach Garrod und Hopkins[1]) wird das Chromogen auch beim Sättigen des Harns mit Ammonsulphat grossentheils gefällt. Der alkoholische Auszug des Niederschlags wird durch Säure roth und zeigt dann neben dem Uroroseinstreifen ein schwaches Urobilinband. Eine Trennung des Chromogens lässt sich bewerkstelligen, wenn man in dem Harn nur so viel Ammonsulphat löst, bis Trübung eintritt; diese rührt von dem Chromogen her, das Urobilin bleibt in der Lösung.

D. *Nachweis.* In jedem Harn tritt nach Rosin auf Zusatz einer auch nicht oxydirenden Mineralsäure (Salzsäure, Phosphorsäure, Schwefelsäure) Urorosein in der Kälte nach einigen (bis 10) Minuten, schneller in der Wärme (70°), auf. Bei chromogenreichen Harnen genügt ein Zusatz von 15 Tropfen Salzsäure zu 10 cc Harn, bei chromogenarmen ist das halbe Volumen Salzsäure erforderlich (Rosin). Die Rothfärbung verschwindet gewöhnlich in 24 Stunden wieder. Die Bildung des Farbstoffs ist aber auch hier die Folge einer Oxydation, welche durch den Sauerstoff der Luft oder durch im Harn enthaltene oxydirende Substanz (Salpetersäure) bewirkt wird. Schneller und vollständiger geht aber die Bildung des Uroroseins auf Zusatz eines Oxydationsmittels vor sich. Deshalb entwickelt Salpetersäure das Urorosein schneller als eine andere Säure; beim Schichten von Harn auf Salpetersäure kann dann selbst in chromogenarmen Harnen ein rosenrother Ring (von Urorosein, aber auch von Indigroth) auftreten. (Heller's Urophäinprobe). Chromsäure ist wegen ihrer Eigenfarbe nicht anwendbar. Am Schnellsten wird das Urorosein erzeugt, wenn man den Harn mit Salzsäure und dann mit sehr wenig Chlorwasser oder Chlorkalklösung versetzt, wie bei der Indicanprobe. Ein Ueberschuss an Oxydationsmittel zerstört das Urorosein wieder.

In chromogenreichen Harnen ist das Urorosein nach Zusatz einer nicht oxydirenden Mineralsäure durch seine Farbe direkt im Reagensglas schon wahrnehmbar, in chromogenarmem aber erst in dicker Schicht und auch dann kann es von andern Farbstoffen noch verdeckt sein.

Zum Nachweis kleiner Mengen und zum sichern Nachweis des Uroroseins überhaupt ist aber die Extraction mit Amylalkohol (C. I.) und die nachfolgende spectroskopische Untersuchung unerlässlich.

Die Schwefelsäure eignet sich unter den nicht oxydirenden Säuren zum Nachweis am Wenigsten wegen der braunen Substanzen, welche sie mit Harn bildet.

Erleichtert wird der Nachweis nach Rosin, wenn man den Harn vor dem Zusatz der Säure durch Thierkohle oder durch Fällen mit Bleiacetat entfärbt; das Filtrat muss aber darnach, wenn es arm an Chromogen ist, noch durch Abdampfen concentrirt werden.

Kleine Mengen Urorosein lassen sich nach Rosin auch noch so nachweisen, dass man den Harn nach der Behandlung mit der Säure wiederholt durch dasselbe Filter filtrirt. Der Farbstoff bleibt im Papier haften und lässt sich durch Aethylalkohol ausziehen.

---

[1]) A. E. Garrod u. F. G. Hopkins, Journ. of Physiol. 20. 134. 1896.

Die Salpetersäure muss, namentlich in der Wärme, mit grosser Vorsicht angewendet werden, weil sie den Farbstoff weiter oxydirt; gleichzeitig anwesendes Eiweiss schützt aber den Farbstoff einigermaassen von der zerstörenden Wirkung der Salpetersäure.

Bei der Einwirkung von Salzsäure und Chlor auf Harn entstehen zugleich Indigblau und Indigroth, von denen das Indigblau das Urorosein verdecken, das Indigroth aber mit ihm verwechselt werden kann. Zur Trennung der Farbstoffe räth Rosin, den Harn tüchtig mit Chloroform zu schütteln, wobei beide Farbstoffe in dieses übergehen können, das Urorosein aber in der wässrigen Lösung bleibt. Das Verfahren ist aber nicht verlässlich, weil nicht alles Indigroth in das Chloroform übergeführt zu werden braucht. Schüttelt man darnach den Harn mit Amylalkohol, so nimmt dieser Indigroth und Urorosein auf, giebt aber von beiden nur das Urorosein an (verdünnte) Lauge oder Alkalicarbonat ab. In der Lauge kann man das Urorosein durch Zusatz von Säure direkt in Freiheit setzen, oder man schüttelt die Lauge erst mit Aether, welcher das Salz des Uroroseins aufnimmt, und den Aether darauf mit Säure, in welche das Urorosein übergeht.

Auch bei der Behandlung des Harns mit Säure allein können andere Farbstoffe auftreten. Indigroth entsteht nach Rosin[1]), wenn auch in geringer Menge, namentlich beim Behandeln des Harns mit viel Salzsäure in der Wärme oder bei längerer Einwirkung in der Kälte. Das Uroerythrin ist kaum zu berücksichtigen, weil es sich im Licht und mit Reagentien sehr leicht zersetzt und aus den Lösungen verschwindet. In den amylalkoholischen Auszug geht aber auch das stets anwesende Urobilin über, und er ist dann, namentlich bei chromogenarmen Harnen, nicht immer rosenroth gefärbt, sondern mehr oder minder braun und weist den Absorptionsstreifen des Urobilins auf. Lässt sich der Uroroseinstreifen daneben nicht erkennen, oder kommt es aus einem anderen Grunde darauf an, beide Farbstoffe zu trennen, so soll man nach Rosin den Amylalkoholauszug mit Ammoniak schütteln, die ammoniakalische Lösung ansäuern, die Farbstoffe wieder mit Amylalkohol aufnehmen und das Verfahren wiederholen, wobei der Alkohol eine immer reinere Rosafärbung annimmt. Schneller dürfte man zum Ziele gelangen, wenn man die alkalische Lösung mit Aether und diesen darauf mit verdünnter Säure behandelt, wobei das Urorosein in die Säure übergeht. In ähnlicher Weise könnte man die Trennung des Uroroseins vom Hämatoporphyrin versuchen.

Die spectroskopische Untersuchung ist nicht zu unterlassen. Hammarsten[2]) fällte einen Sulfonalharn erst durch abwechselnden Zusatz von Baryumacetat und Natriumcarbonat, dann, nach dem Neutralisiren, mit den Bleiacetaten und erhielt beim Behandeln des Filtrats mit Salzsäure und Chlorkalk, sowie mit Salzsäure allein einen rothen Farbstoff, der, wie das Urorosein, nicht auf Zusatz von Essigsäure, aber von Salzsäure entstand, in Amylalkohol löslich, in Aether und in Chloroform unlöslich war und sich durch Alkali entfärbte, sich aber darin vom Urorosein unterschied, dass die amylalkoholische Lösung keinen Streifen zwischen D und E, aber einen zwischen b und F darbot, der Farbstoff sich im Licht tagelang unverändert erhielt und beim Filtriren kein Farbstoff auf dem Filter zurückblieb.

V. Indigroth.


$C_{16}H_{10}N_2O_2$.

A. *Vorkommen.* Das Indigroth ist, wie das Indigblau, ein Zersetzungsprodukt der Indoxylschwefelsäure und der Indoxylglykuronsäure und ist bei jeder Bildungsweise immer von Indigblau begleitet. Es entsteht aus der Indoxylschwefelsäure bei der Einwirkung nicht

---

[1]) Rosin, Virchow's Archiv **123**. 537. 1891.
[2]) Hammarsten, Skandin. Archiv **3**. 323. 1892.

oxydirender Säuren (Salzsäure, Schwefelsäure) auf Harn, sowie bei der gleichzeitigen Behandlung des Harns mit Säuren und Oxydationsmitteln, mit Salpetersäure allein bei der Rosenbach'schen Probe, mit Salzsäure und Chlorkalk bei der Jaffé'schen Indicanprobe, in beiden Fällen reichlicher in der Wärme als in der Kälte, und bildet sich manchmal bei der alkalischen Harngährung allein oder doch vorwiegend aus der Indoxylglykuronsäure. Bei der Harngährung scheidet es sich in fester Form aus dem Harn ab. Unter der Einwirkung von Säure, mit oder ohne Oxydation, auf den Harn entsteht zugleich Urorosein.

Ueber die Bildungsweisen der Indoxylverbindungen ist bei diesen (§ 7. V. S. 161) berichtet. Dem Indigroth ähnliche Farbstoffe stellten Niggeler nach dem Einverleiben von Isatin $C_8H_5NO_2$, sowie Masson und Nencki[1]) nach der Zufuhr von Oxindol C_8H_7NO und Dioxindol $C_8H_7NO_2$ direkt aus dem Harn dar.

Das durch nicht oxydirende Säuren entstehende Indigroth ist von Heller Urrhodin, von Plósz Urorubin benannt und von Beiden zuerst näher untersucht worden. — Mit der Untersuchung der bei der Rosenbach'schen Reaction entstehenden Farbstoffe hat sich Rosin eingehend beschäftigt. — Das Auftreten eines rothen Farbstoffs neben Indigblau bei der Indicanprobe ist von Jaffé selbst beobachtet worden; die Anwendung von Bromwasser oder Eisenchlorid statt Chlorkalk hat denselben Erfolg (Rosin). Fälle (Typhus, Icterus), in welchen das Indigroth dabei in auffällig grossen Mengen auftrat, haben Fr. Müller und Krukenberg beschrieben. — Beobachtungen über die Bildung von Indigroth bei der Fäulniss von (meist eiweisshaltigem) Harn sind veröffentlicht worden von Nencki und Niggeler, von Plósz und von Rosin. In Harnsteinen ist es von Heller, in einem Nierenstein von Ord, in einem anderen, von Chiari[2]) beschriebenen, von Hofmeister nachgewiesen worden.

Nach Rosin entsteht es in grösserer Menge in Harnen, welche bei der Rosenbach'schen Probe burgunderfarben werden, also bei schweren Darmerkrankungen (Ileus, Brucheinklemmung, gewisse Formen von schwerer Diarrhöe), bei schweren Ernährungsstörungen (manchen Formen der Phthise, Krebskachexie, bei vielen Kranken gegen das Lebensende). Aber auch bei vielen anderen Krankheiten, welche die Rosenbach'sche Reaction nicht gut geben, tritt es reichlich auf. Choleraharn liefert es nach Thudichum und nach Wyss[3]) in grosser Menge. Aus normalen Harnen lassen sich nur Spuren darstellen. Da die Menge des gebildeten Indigroth nicht blos abhängig ist von der Menge der Indigbildner, sondern auch von der Art der Zersetzung dieser, so haben solche Bestimmungen nur einen bedingten Werth. Aus indicanreichen Thierharnen (Rinder, besonders Pferde) kann

---

1) Niggeler, Archiv f. exper. Pathol. **3**. 72. 1875; Nencki, Berichte d. chem. Gesellsch. **7**. 1594. 1874.

2) Heller, dessen Archiv 1845. 170; 1846. 536. 539. — P. Plósz, Ztschr. f. physiol. Ch. **8** 85. 1883. — O. Rosenbach, Berliner klin. Wochenschr. 1. 13. 17. 22 23. 1889. — H. Rosin, Centralbl. f. klin. Med. 29. 1889. 505; Virchow's Archiv **123**. 519. 1891. — Jaffé, Virchow's Archiv **70**. 73. 1877. — Krukenberg, Verhandlungen der physik.-med. Gesellsch. zu Würzburg [2] **18**. 192. 1884. — M. Nencki, Berichte d. chem. Gesellsch. **7**. 1593. 1874. — Niggeler, Archiv f. exper. Pathol. **3**. 70. 1875. — Plósz, Ztschr. f. physiol. Ch. **6**. 504. 1882. — Rosin, Virchow's Archiv **123**. 538. — Heller, dessen Archiv 1846. 21. — Ord, Berliner klin. Wochenschr. **15**. 365. 1878. — Chiari, Prager med. Wochenschr. 50. 1888. 541.

3) Rosin, Virchow's Archiv **123**. 535. — Thudichum, Ninth Report of the med. officer of the privy council 1866 u. Tenth Report 1867. 188. — O. Wyss, Archiv f. Heilkunde **9**. 237. 1868.

es nach Rosin in grosser Menge gewonnen werden. Hundeharn giebt nur eine geringe Ausbeute, wie an Indigblau, so auch an Indigroth. Kaninchenharn ist frei von den Muttersubstanzen der Indigfarbstoffe.

B. *Eigenschaften.* 1. Nach der Untersuchung von Rosin ist das Indigroth identisch mit dem im rohen Indigo enthaltenen, von Schunck Indirubin benannten rothen Farbstoff, und nach Schunck und Marchlewski[1]) dieses wieder identisch mit dem von Baeyer durch Reduction des Isatinchlorids erhaltenen Indigpurpurin und mit der von Baeyer dargestellten und gleichfalls als Indirubin bezeichneten Verbindung von Isatin mit Indoxyl. Indigroth ist isomer mit Indigblau.

2. Es krystallisirt (auch aus Harn) in chocoladebraunen oft sternförmig angeordneten Nadeln oder in rhombischen Plättchen mit Kupferglanz; im durchfallenden Licht erscheinen die Krystalle granatroth. Das amorph abgeschiedene Indigroth besitzt eine kirschrothe Farbe. Die Substanz beginnt ohne vorher zu schmelzen, bei 295—310° zu sublimiren und sublimirt vollständig bei 340° mit violettem Dampf und charakteristischem Indiggeruch; der Dampf condensirt sich zu feinen Nadeln, zum Theil auch braunen Körnchen.

3. Das Indigroth ist unlöslich in Wasser, verdünnter Salzsäure und Schwefelsäure, in Alkalien, in Benzol, Ligroin, Petroläther, löst sich dagegen in Methyl-, Aethyl-, Amylalkohol, in Aether, Essigäther, Aceton, Chloroform, Benzol, Phenol, Nitrobenzol, Anilin, Paraffin, ätherischen Oelen (namentlich in der Wärme), heissen fetten Oelen; Eisessig oder Essigsäureanhydrid lösen den Farbstoff leicht. Concentrirte Schwefelsäure löst es als Sulfosäure.

Diese Lösungen besitzen eine kirschrothe Farbe; ein Stich in's Blaue rührt nach Schunck und Marchlewski von beigemischtem Indigblau her und verschwindet mit diesem.

Die Löslichkeit des Indigroths ist nicht bedeutend. In kaltem Chloroform löst es sich wenig, in siedendem Chloroform leichter als in Alkohol und in diesem besser als in Aether. Es krystallisirt leicht aus den heiss gesättigten Lösungen in Chloroform, Aether, Anilin beim Erkalten. Bei dem Verdünnen seiner Lösung in Alkohol oder in Eisessig mit Wasser, oder der Lösung in Chloroform mit dem doppelten Volumen Ligroin scheidet es sich krystallinisch ab. Bei raschem Verdunsten seiner Lösungen wird es amorph erhalten (Rosin). — Seinen Lösungen in Chloroform oder Aether kann es durch Alkalilösungen (auch Ammoniak) nicht entzogen werden.

4. Spectrum. Concentrirte Lösungen absorbiren das Spectrum von D bis F 23 G (bis Blau), wobei auch das violette Ende erheblich verdunkelt ist. Der Streifen ist gegen das Gelb hin verwaschen. Verdünntere Lösungen bieten eine auf beiden Seiten schmalere Absorption dar, die aber auch in schwachen Lösungen noch eine beträchtliche Ausdehnung besitzt (D 12 E — E 65 F).

---

[1]) E. Schunck u. L. Marchlewski, Berichte d. chem. Gesellsch. 28. 540. 1895.

5. Durch Salzsäure wird das Indigroth selbst in der Wärme nicht verändert. In concentrirter Schwefelsäure löst es sich unter Bildung von Indigrothschwefelsäure.

Die Lösung ist anfangs schmutzig grauschwarz oder braunviolett, nimmt bei einigem Stehen eine schönere Farbe an und wird beim Erhitzen bedeutend heller und feurig kirschroth. Sie giebt dasselbe Spectrum wie die Lösungen des Indigroth selbst. Die Säure lässt sich mit Soda neutralisiren, ohne ihre Farbe zu verlieren; sie selbst und ihre Alkalisalze lösen sich nach Rosin auch in Alkohol, aber nicht in Aether und in Chloroform. Aus der verdünnten Lösung scheidet Kochsalz dunkelviolette Flocken ab. Seide und Wolle färbt sie purpurn und ächt, auch Baumwolle färbt sie; durch überschüssiges Alkali wird sie zersetzt.

6. Oxydationsmittel zerstören das Indigroth, doch ist es beständiger als Indigblau.

Kalte concentrirte Salpetersäure löst Indigroth mit purpurner Farbe, die Lösung wird aber (in der Wärme) roth und gelb, wie es scheint unter Bildung von Pikrinsäure. Königswasser, Chlorkalk und Salzsäure, Kaliumchromat und Schwefelsäure oxydiren gleichfalls. Setzt man einer alkoholischen Lösung Alkali hinzu, so wird sie, nach Schunck und Marchlewski, mit der Zeit braunroth, dann nach und nach blasser und farblos, unter Bildung von Isatin; Wasserstoffsuperoxyd beschleunigt diese Oxydation.

Beim Kochen des Indigroths mit Lauge entsteht nach Rosin ein brauner Körper.

7. In Berührung mit den alkalischen Lösungen reducirender Substanzen (Traubenzucker, Zinkstaub, Zinnoxydul) bildet das Indigroth eine farblose Lösung von Indirubinweiss, welche an der Luft wieder roth wird, giebt also, wie Indigblau, eine Küpe.

Die Ausscheidung von Indigroth aus gefaultem Harn bei Luftzutritt ist eine ganz analoge Erscheinung.

Saure Reductionsmittel (Zinn und Salzsäure, Eisessig und Zinkstaub) entfärben das Indigroth auch, wobei zunächst wieder Indirubinweiss entsteht. Bei weiterer Reduction bildet sich aber nach Forrer[1]) ein an der Luft farblos bleibender krystallisirender Körper, das Indileucin.

C. *Darstellung.*

1. Nach Plósz[2]) Kocht man Harn 10—20 Minuten mit 5—10 % Salzsäure, so scheidet sich neben Indigo auch Urorubin ab. Man schüttelt den braungewordenen Harn mit Aether oder Chloroform. destillirt das Lösungsmittel ab, wäscht den Rückstand mit heissem Wasser, löst in Aether, wobei etwas Indigo zurückbleibt und entfernt einen Rest Urobilin durch Schütteln mit sehr verdünnter Natronlauge. Der Aether hinterlässt eine dunkel kirschrothe, spröde, undeutlich krystallinische Masse; bei sehr langsamem Verdunsten der ätherischen, besser der alkoholischen Lösung erhält man mikroskopische rhombische Plättchen.

2. Nach Rosin[3]). Indicanreicher Harn wird mit basisch essigsaurem Blei ausgefällt, aus dem Filtrat das überschüssige Blei mit Salzsäure entfernt, die abermals filtrirte Flüssigkeit auf das Liter mit ungefähr 20 g Salpetersäure versetzt und sofort in einem grossen Kolben zum Sieden erhitzt, wobei sie erst dunkelbraun, dann violett und endlich kirschroth wird. Jetzt wird, um die Oxy-

1) Forrer, Berichte d. chem. Gesellsch. 17. 977.
2) P. Plósz, Ztschr. f. physiol. Ch. 8. 85.
3) Rosin, a. a. O. 539.

dation des gebildeten Indigroths durch die Salpetersäure zu verhüten, die Flüssigkeit schnell abgekühlt und mit Natriumcarbonat in Substanz bis zu schwach saurer Reaction versetzt. Der sich bildende Niederschlag, welcher aus Indigroth neben Indigblau und brauner Substanz besteht, wird auf einem Filter mit kohlensaurem Natron, darauf mit Wasser gewaschen und nach dem Trocknen so oft mit Chloroform ausgekocht, bis es sich nicht mehr purpurn, sondern blau färbt. Man destillirt dann so viel Chloroform ab, bis die Flüssigkeit ihre kirschrothe Farbe verloren hat und rein braun geworden ist, bringt nach dem Erkalten das ausgefallene Indigroth auf ein Filter und wäscht es mit Chloroform. Wenn dieses nicht mehr braun, sondern schön purpurn abfliesst, wird der Niederschlag zur Entfernung des Indigblaus und des Restes brauner Substanz so oft mit Aether ausgekocht, als dieser noch rein roth wird, dann der Aether abdestillirt, bis sich Krystalle abzuscheiden beginnen. Nach 24 Stunden werden diese abfiltrirt. Durch nochmaliges Umkrystallisiren aus Aether erhält man das Indigroth analysenrein. — Die Ausbeute ist sehr gering; aus 300 Ltr. indicanreichem Harn gewinnt man kaum mehr als 1 g Farbstoff. — Normalen Harn dampft man vor dem Ausfällen mit dem Bleisalz zweckmässig auf ein Zehntel ein.

D. *Nachweis.* Das Indigroth kann mit dem gleichfalls bei der Einwirkung von Säure allein oder Säure und Oxydationsmittel auf Harn entstehenden Urorosein verwechselt werden. Um diese zwei Farbstoffe zu trennen, neutralisirt man den Harn und schüttelt ihn (im Reagensglas) mit Aether aus, welcher das Indigroth aufnimmt, das Urorosein aber nicht. Färbt sich der Aether dabei roth, so untersucht man die Lösung spectroskopisch. Man verdunstet darauf den Aether und behandelt den Rückstand mit Alkohol, welcher Indigroth mit schön rother Farbe aufnimmt; erwärmt man diese Lösung mit etwas Natriumcarbonat und Traubenzuckerlösung, so verliert sie ihre rothe Farbe, wenn Indigroth zugegen war, und nimmt sie beim Schütteln mit Luft wieder an.

Vom S k a t o x y l r o t h unterscheidet sich das Indigroth durch die Unlöslichkeit des Skatolroths in Aether.

Harnsedimente, Harnsteine, mit Säure aus dem Harn gefällte Harnsäure sind blau oder amethystroth gefärbt, wenn sich Indigblau und Indigroth mit abgeschieden haben; ihnen kann man das Indigroth direkt mit Aether entziehen, oder man behandelt sie mit Alkohol, dampft die Lösung ein und extrahirt den Rückstand mit Aether.

Bei der Behandlung indicanreichen eiweisshaltigen Harns mit Salpetersäure scheidet sich das Eiweiss mit violetter Farbe ab (H e l l e r); aus diesem Niedeschlag lässt sich das Indigroth in derselben Weise gewinnen, wie aus den Sedimenten.

Um das Indigroth in dem Chloroform nachzuweisen, welches bei der J a f f é'schen Indicanprobe die Indigfarbstoffe aufgenommen hat, wäscht man nach R o s i n das Chloroform zur Entfernung brauner Substanzen mit verdünntem Ammoniak oder Natriumcarbonat, verdunstet das Chloroform und zieht den Rückstand mit Aether aus.

Vom Indigblau lässt sich das Indigroth am Besten durch Aether trennen; dieser nimmt das Roth viel besser auf, als das Blau. — Dem Indigroth beigemengtes Urobilin lässt sich ihm durch Schütteln der Lösung beider Farbstoffe mit verdünnter Lauge entziehen.

VI. Skatolroth.

Die rothen Farbstoffe aus Skatoxylschwefelsäure (Skatolharn) sind § 7. VI. B. 3. S. 168 und der aus Skatolcarbonsäure bei dieser (§ 25. B. S. 257) beschrieben.

VII. Andere unbestimmte rothe Farbstoffe.

1. Urohämatin von Harley.

Harley stellte aus Harn einen eisenhaltigen rothen Körper dar, den er Urohämatin nannte. Normaler Harn wird unter fortwährender Entfernung der sich ausscheidenden Salze zum Syrup eingedunstet, der Rückstand mit Alkohol ausgezogen und die alkoholische Lösung bis zur Entfärbung mit Kalkmilch gekocht, wobei ein rother Niederschlag entsteht. Dieser wird mit Wasser und mit Alkohol gewaschen, mit Salzsäure zerlegt und mit Alkohol ausgezogen. Die alkoholische Lösung wird darauf mit dem gleichen Volumen Aether tüchtig geschüttelt, der Aether abgehoben, mit Wasser gewaschen und verdunstet; dabei bleibt eine dunkelrothe Substanz zurück, die sich in Alkohol und in Aether mit rother Farbe löst und beim Verbrennen einen voluminösen Rückstand von Eisenoxyd lässt. Eine dieser ähnliche Substanz wurde auch aus den von Scherer[1]) aus Harn dargestellten Farbstoffen gewonnen.

Das Urohämatin löst sich nicht in Wasser oder in Neutralsalzlösungen, auch nicht in Säuren, aber in Alkohol, Aether, Chloroform und in ätzenden Alkalien.

2. Giacosa's Farbstoff.

Giacosa[2]) hält den von ihm dargestellten Farbstoff für wenigstens verwandt mit dem Urohämatin von Harley. Er entsteht wie das Uromelanin von Plósz, das Urorubin (Urrhodin), das Urorosein etc. durch Einwirkung von Säuren auf Harn. Von dem Uromelanin unterscheidet er sich durch seine Löslichkeitsverhältnisse, von dem Urorubin und dem Urorosein u. A. durch den Mangel von Absorptionsstreifen. Möglich ist es, dass der Amylalkohol bei seiner Bildung betheiligt ist (B. I. S. 510).

Das Chromogen des Farbstoffs tritt regelmässig bei Mensch, Hund und Kaninchen im Harn auf; es kann durch Amylalkohol ausgeschüttelt und durch Bleiessig grösstentheils gefällt werden.

Der Farbstoff wird erhalten, wenn man den Harn mit Bleizucker ausfällt, das überschüssige Blei mit Schwefelwasserstoff, diesen durch Erwärmen entfernt und den Harn nach dem Erkalten mit 0,8 Volumen Salzsäure von 1.19 Dichte versetzt. Ist die Flüssigkeit in einigen Minuten rosenroth geworden, so wird sie mit dem gleichen Volumen Amylalkohol ausgeschüttelt, nach spätestens 1 Stunde der rubinrothe Amylalkohol abgehoben, mit Wasser säurefrei gewaschen, was nach v. Udránszky[3]) jedoch nicht vollständig gelingt, der Amylalkohol abdestillirt, der Rückstand mit warmem Wasser und zur Entfernung etwa vorhandenen Urobilins mit verdünntem Ammoniak gewaschen. Nach dem Trocknen wird der Farbstoff in wasser- und alkoholfreiem Aether gelöst, die Lösung verdunstet, der Rückstand mit Wasser und Ammoniak gewaschen, wieder in Aether gelöst und das Verfahren so oft als nöthig wiederholt. Der in Aether unlösliche Theil löst sich in Alkohol und ist spectroskopisch von dem in Aether löslichen nicht zu unterscheiden.

Bei der Darstellung lässt sich weder die Salzsäure noch der Amylalkohol durch eine andere Substanz ersetzen. Lässt man den Amylalkohol länger als 1 Stunde über dem angesäuerten Harn stehen, so geht auch sich bildender brauner Farbstoff in den Alkohol über.

Der Farbstoff bildet eine braune feste Masse, welche bei 100—120° schmilzt und über Schwefelsäure scheinbar krystallisirt. Seine Lösungen in Aether, in Alkohol und in Amylalkohol zeigen keinen Absorptionsstreifen. Die Lösungen in Aether

---

1) G. Harley, Verhandl. d. physik.-med. Gesellsch. zu Würzburg 5. 1. 1854. — Scherer, Ann. d. Ch. u. Pharm. 57. 180.

2) P. Giacosa, Ann. di chim. e di farmac. [4] 3. 201; Ber. d. chem. Gesellsch. 20. Ref. 393. 1887; Jahresber. f. Thierch. 1886. 213.

3) v. Udránszky, Ztschr. f. physiol. Ch. 11. 548. 1887.

und in Chloroform besitzen eine schön grüne Fluorescenz, die amylalkoholischen fluoresciren nur schwach, die alkoholischen gar nicht. Der Farbstoff enthielt 0,45 % Asche, die fast nur aus Eisen bestand. Beim Kochen mit Salzsäure wird der Farbstoff zerstört.

3. Der Harnsäurefarbstoff von Kunkel.

Wie die beiden soeben beschriebenen Farbstoffe ist auch der Farbstoff, welcher der mit Salzsäure aus normalem Harn gefällten Harnsäure ihre braune Farbe ertheilt, nach Kunkel[1]) eisenhaltig. Versetzt man den mit Salzsäure ausgefällten Harn mit einer Lösung von harnsaurem Natron, so fällt wieder durch den eisenhaltigen Farbstoff gefärbte Harnsäure aus. Der isolirte Farbstoff besitzt keine ausgezeichneten spectroskopischen Eigenschaften.

Wie Kunkel fand auch Garrod[2]) die mit Salzsäure gefällte wie die von selbst ausgefallene Harnsäure in geringem Grade, die von selbst ausgefallene aber stärker eisenhaltig als die mit Säure gefällte. Da dieser Farbstoff nur einen kleinen Theil der in der Harnsäure enthaltenen Farbstoffe ausmacht, so müsste er reich an Eisen sein. Für das Bestehen eines eisenhaltigen Farbstoffs spricht aber nur diese Thatsache.

4. Der von Leube beobachtete Farbstoff.

Aus dem pathologischen Harn, welcher an der Luft tiefdunkelviolett wurde, ging der Farbstoff nach Leube[3]) mit schön dunkelvioletter Farbe in Aether über. Beim Verdunsten des Aethers blieb der Farbstoff in schwarzen harzigen Flocken zurück. Heisses Wasser löste den Rückstand zum grossen Theil; in Aether, Benzol, Chloroform, Alkohol löste er sich mit der ursprünglichen Farbe; die Lösungen zeigten keine Fluorescenz. Nach der weiteren Untersuchung von E. Fischer wurde der Farbstoff in der ätherischen Lösung durch verdünnte Säuren nicht verändert, auch nicht dem Lösungsmittel entzogen. Verdünntes Alkali nahm ihn dagegen auf, die Lösung war anfangs braunroth, wurde aber bei einigem Stehen gelb. Concentrirte Schwefelsäure zerstörte den Farbstoff sofort; kalte concentrirte Salzsäure löste ihn anscheinend ohne Veränderung, beim Erhitzen entfärbte sich aber die Lösung. Die alkoholische Lösung wurde durch Zinkstaub entfärbt und an der Luft wieder violett; dasselbe war der Fall, wenn die mit Zinkstaub versetzte alkoholische Lösung mit Essigsäure schwach angesäuert wurde. Vor dem Spectroskop zeigte auch die concentrirte ätherische Lösung nur eine ganz schwache diffuse Auslöschung von E bis gegen G. — Durch seine Löslichkeit in Alkali und sein spectroskopisches Verhalten unterscheidet sich der Farbstoff von Indigroth.

5. Der von Thormählen beobachtete Farbstoff.

Der von Thormählen[4]) untersuchte Harn stammte von einer an Leber- und Milztumor leidenden Frau. Er war bei saurer Reaction dunkelbraun und setzte ein rosenrothes Uratsediment ab. Bei der Jaffé'schen Indicanprobe trat eine intensiv dunkelrothe Färbung auf. Verdünnte Eisenchloridlösung für sich färbte den Harn schwach roth. Bei der Legal'schen Acetonreaction (S. 57) wurde die Probe nach dem Ansäuern mit Essigsäure sofort prachtvoll blau. Diese Reaction wurde noch an vier anderen Menschenharnen bemerkt, von denen drei reich an Indican waren.

Pferde- und Katzenharn geben nach Thormählen bei der Legal'schen Probe gleichfalls eine Blaufärbung, wenn auch nur schwach. Die Substanz, von

---

1) Kunkel, Sitzungsber. der physik.-med. Gesellsch. zu Würzburg 1881. 69; Jahresb. f. Thierch. 1881. 246.

2) Archibald E. Garrod, Journ. of Pathol. and Bactériol. November 1894. 104.

3) W. Leube, Virchow's Archiv **106**. 418. 1866.

4) Joh. Thormählen, Virchow's Archiv **108**. 313. 1887.

welcher sie herrührt, ist nicht flüchtig, wird durch starke Mineralsäuren bald, durch organische langsamer zersetzt, dagegen nicht durch Alkalien, selbst nicht in der Siedehitze. Eisenchlorid sowie Bleizucker fällen sie nicht, wohl aber Bleiessig zum Theil und Bleisalz und Ammoniak fast vollständig. Aus dem Bleiniederschlag erhält man sie nicht durch Schwefelwasserstoff, aber durch kohlensaures Natron wieder. Thierkohle hält sie zurück. Aus dem Abdampfungsrückstand des Pferdeharns lässt sie sich durch siedenden Alkohol ausziehen; ein gleiches Volumen Aether fällt sie ziemlich vollständig aus der alkoholischen Lösung. Auch in Amylalkohol und Glycerin ist sie löslich, dagegen nicht in Chloroform, Petroläther, Benzol und Schwefelkohlenstoff; in heissem Aether und Essigäther löst sie sich nur wenig. Unter der Voraussetzung, dass es sich um eine Aetherschwefelsäure handelte, wurde noch versucht, das Kalisalz derselben nach Baumann u. Brieger (S. 165) darzustellen und dabei wurde ein an Indican und der fraglichen Substanz reiches Produkt erhalten.

§ 45. Enzyme.

A. *Vorkommen.* Von Enzymen sind mit Sicherheit zwei im Harn nachgewiesen worden: Pepsin, von Brücke[1]) u. A., und ein diastatisches Ferment, von Cohnheim[2]) u. A. Trypsin scheint nur zeitweilig vorzukommen. Die Anwesenheit von Lab ist zweifelhaft.

1. Das Pepsin ist im Harn des Menschen und in grosser Menge in dem des Hundes nachgewiesen, in dem des Kaninchens (von Neumeister) aber vermisst worden. Am Meisten findet es sich vor den Mahlzeiten (Sahli), in den Morgenstunden (Mees) vor, am Wenigsten in den ersten Stunden nach der Hauptmahlzeit (Sahli, Gehrig, Hoffmann). Nach längerem Hungern ist es nur in Spuren vorhanden, nach der Wiederaufnahme von Nahrung dagegen sehr reichlich (Leo, Senator). In Krankheiten scheint es bei schlechtem Ernährungszustand vermindert zu sein, doch stimmen die Beobachtungen nicht alle überein (Leo, Wasilewski, Mya und Belfanti, Stadelmann); diagnostische Bedeutung hat die Pepsinmenge nicht (Leo, Stadelmann).

---

1) E. Brücke, Sitzungsber. d. k. Akad. d. Wiss. zu Wien, math. physik. Cl. **43**. 618. 1861; Schmidt's Jahrbb. **114**. 162. — Kühne, Verh. d. naturhist.-med. Vereins zu Heidelberg [2] **2**. 5. 1877. — Grützner, Neue Unters. über die Ausscheidung u. Bildung d. Pepsins. Breslau 1875; Breslauer ärztl. Ztschr. 17. 1882. — W. Sahli, Pflüger's Archiv **36**. 209. 1885. — L. Mees, Diss. Groningen 1885; Jahresber. f. Thierch. 1885. 269. — W. Leo, Pflüger's Archiv **37**. 223. 1885. — Fr. Gehrig, das. **38**. 39 u. 85. 1886. — Mya u. Belfanti, Centralbl. f. klin. Med. 26 u. 42. 1886. — E. Stadelmann, Ztschr. f. Biol. **24**. 226. 1887; **25**. 208. 1888. — R. Neumeister, das. **24**. 289. — H. Hoffmann, Pflüger's Arch. **41**. 148. 1887. — Patella, Annali univ. di med. e chir. Vol. 279. Giugno 1887; Virchow-Hirsch's Jahresber. 1887. **1**. 252. — T. A. Wasilewski, Jahresber. f. Thierch. 1887. 193. — Leo u. Senator, Berl. klin. Wochenschr. 1887. 434; Virchow's Arch. **131**. Supl. 142. — H. Schnapauff, Diss. Rostock 1888; Jahresb. f. Thierch. 1889. 199. — J. Bendersky, Virchow's Arch. **121**. 554. 1890. — A. Ewald, Ztschr. f. Biol. **26**. 22. 1890. — L. Tasulli, Boll. dell' Acad. med. di Roma, **19**. 2. 1893; Jahresb. f. Thierch. 1894. 289.

2) Cohnheim, Virchow's Arch. **28**. 249. 1863. — Grützner, Breslauer Ztschr. a. a. O. — Gehring, a. a. O. — E. Holovtschiner, Virchow's Arch. **104**. 42. 1886. — Hoffmann, a. a. O. 159. — R. Breusing, Virchow's Arch. **107**. 186. 1887. — Bendersky, a. a. O. — B. Rosenberg, Diss. Tübingen 1890; Centralbl. f. Physiol. **4**. 587; Jahresb. f. Thierch. 1890. 177.

2. Das tryptische Enzym ist von Kühne und den anderen unten genannten Autoren[1]) im Harn nicht aufgefunden worden. Nach Bendersky findet sich aber im normalen Harn in schwankenden Mengen eine Substanz, welche in alkalischer Lösung Fibrin zum Zerfall bringt; im Harn Kranker kann sie ganz fehlen. Tasulli findet die Menge des Trypsins stets sehr bedeutend vor den Mahlzeiten; während der Verdauung verschwindet es und tritt darauf wieder in zunehmender Menge auf. Hopkins[2]) konnte es im Harn bei perniciöser Anämie zweimal unter 4 Versuchen nachweisen, vermisste es jedoch im Harn Gesunder.

3. Das diastatische Ferment findet sich im Harn des Menschen, des Hundes und Kaninchens, beim Hund am Wenigsten. Am Reichlichsten erscheint es nach der Hauptmahlzeit; am Spärlichsten nachts, vormittags und im Hunger (Gehring, Hoffmann); nach Mees tritt es kurz vor der Mittagsmahlzeit in grösster Menge auf. Es lässt sich nach Breusing durch Alkohol aus dem Harn fällen. Im Harn von Kaninchen tritt es nach Herrmann[3]) nach grossen Gaben Glycerin in erheblichen Mengen auf.

4. Lab glauben Grützner, Holovtschiner und Helwes im Harn aufgefunden zu haben; Boas[4]) dagegen zieht die Beweisfähigkeit der Versuche seiner Vorgänger in Zweifel.

B. *Nachweis.* Nur der frische Harn entfaltet enzymotische Wirkungen, der gekochte dagegen nicht mehr. Man kann zu dem Versuch den Harn direkt benützen, oder das Enzym, welches sich ihm durch eine längere (1 tägige) Digestion mit klein geschnittenem Fibrin in Zimmertemperatur entziehen lässt; es werden einige hundert Cubikcentimeter Harn zu dem Versuch verwendet; das Fibrin nimmt dabei nicht nur das Pepsin auf (v. Wittich[5]), sondern nach Grützner auch das diastatische Ferment und das Lab, nach Bendersky auch das Trypsin. Salze sind nach Rosenberg von grossem Einfluss auf die Aufnahme des diastatischen Enzyms durch die Fibrinflocken; Kochsalz befördert sie (am Besten bei 1⁰/₀), Soda vermindert sie schon bei 0,03⁰/₀ und lässt sie bei 0,5—1⁰/₀ gar nicht zu Stande kommen. Natriumsulphat ist in der Concentration von 0,016 bis 0,5⁰/₀ ohne Einfluss. Das Fibrin wird dann abgespült zu den Versuchen gebraucht. Das diastatische Enzym entzog Bendersky dem Harn durch feine Schwämmchen. Hopkins fällte den Harn mit Alkohol, liess den Niederschlag einige Tage unter dem Alkohol verweilen und zog ihn dann mit Wasser aus.

1. Pepsin. Wenn man den Versuch mit Harn direkt anstellen will, so verdünnt man den Harn (30 cc) nach Stadelmann auf das 3—4 fache, weil die Harnsalze die Verdauung beeinträchtigen, versetzt ihn mit Salzsäure bis 0,25⁰/₀ HCl, wirft eine gekochte Fibrinflocke hinein und hält ihn längere Zeit auf Bruttemperatur. Thymolisiren des Harns ist überflüssig. — Zur Aufnahme des Enzyms aus dem frischen Harn wird das Fibrin vorher gekocht, dann nach vollendeter Digestion mit dem Harn abgespült und mit Salzsäure von 0,25⁰/₀ auf 40⁰ gehalten.

Man nimmt die Gegenwart von Pepsin an, wenn das Fibrin in Lösung geht. Bei Verwendung von rohem Fibrin darf aber nur dann auf stattgehabte Verdauung geschlossen werden, wenn die Lösung längstens in 12 Stunden erfolgt ist.

---

1) Kühne, Verhandl. d. naturh. med. Vereins zu Heidelberg [2] **2**. 5. 1877. — L. Mees, a. a. O. — Leo, Pflüger's Arch. **37**. 226; **39**. 246. 1886. — Stadelmann, a. a. O. **24**. — Neumeister, a. a. O. — Hoffmann, a. a. O. 162. — Patella, a. a. O. — B. Rosenberg, a. a. O.

2) Bendersky, a. a. O. — Tasulli a. a. O. — F. G. Hopkins, Guy's Hosp. Reports **50**. 371. 1894.

3) A. Herrmann, Prager med. Wochenschr. 48. 1892.

4) Grützner, Breslauer Ztschr. a. a. O. — Holovtschiner, a. a. O. 50. — F. Helwes, Pflüger's Arch. **43**. 384. 1888. — J. Boas, Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1887. 418; Ztschr. f. klin. Med. **14**. 264. 1888.

5) v. Wittich, Pflüger's Arch. **5**. 443. 1872.

Eine verdünntere Säure als die von 0,25 % anzuwenden, ist nicht zweckmässig, weil bei dem höheren Säuregehalt die Verdauung nicht nur schneller von statten geht, sondern weil auch, nach Stadelmann, gekochtes Fibrin bei Abwesenheit von Pepsin in dieser Säure lange Zeit unverändert bleibt, während es bei langer Digestion mit Salzsäure von nur 0,1 % Verdauungsprodukte liefert. — Dehnt man den Versuch tagelang aus, so bilden sich mit der mit Enzym beladenen Fibrinflocke nicht blos die ersten Verdauungsprodukte, wie Acidalbumin und Heteroalbumose, sondern auch die Endprodukte, Deuteroalbumose und Pepton (Patella, Stadelmann). Harn direkt liefert als äusserstes Produkt nur Protalbumose.

2. Das Trypsin wirkt auf die Eiweisskörper am Besten in einer 0,2 bis 0,4 proc. Sodalösung; in diese bringt man die Fibrinflocke, welche das Enzym aufgenommen haben kann. Wässrige Enzymlösung (Hopkins) wird bis zu diesem Gehalt mit Soda versetzt; auch hier dient eine gekochte Fibrinflocke zu dem Versuch. Um der Fäulniss vorzubeugen, welche das Fibrin auch in Lösung bringen würde, ist die Versuchsflüssigkeit stark mit Thymol zu versetzen.

3. Das diastatische Ferment hat man in der Weise aufgesucht, dass man entweder den Harn direkt oder die Fibrinflocke, mit welcher der Harn vorher digerirt worden war, mit frischem Stärkekleister auf Bruttemperatur erwärmte und die Flüssigkeit mittelst der Moore'schen Probe auf Zucker untersuchte; durch Zusatz von Jod liess sich das Verschwinden der Stärke nachweisen. Breusing hat darauf aufmerksam gemacht, dass, wiewohl der Harn nach einiger Zeit mit Jod keine Reaction mehr auf Stärke giebt, die Trommer'sche Probe doch sehr zweifelhaft und die Gährungsprobe auf Zucker negativ ausfällt. Der wässrige Auszug aus dem Alkoholniederschlag des Harns gab keine besseren Resultate als der Harn selbst.

II. Zufällige Bestandtheile.

Von der grossen Zahl der zufälligen Harnbestandtheile werden hier nur solche berücksichtigt, welche häufiger im Harn auftreten, physiologisches oder klinisches Interesse besitzen und für deren Nachweis besondere Methoden ausgearbeitet worden sind; ein Theil der übrigen hat bei der Besprechung der normalen und pathologischen Bestandtheile des Harns beiläufige Erwähnung gefunden.

§ 46. Anorganische Körper.

A. Metalle.

Zur Auffindung der schweren Metalle im Harn muss man dieselben Methoden befolgen, welche zur Entdeckung derselben in gerichtlichen Fällen angewandt werden; es wird deshalb auf die einschlägigen Handbücher verwiesen. Für einzelne der Metalle sind eigene Methoden zum Nachweis derselben im Harn angegeben worden.

1. Quecksilber. Wie E. Ludwig dargethan hat, lässt sich das Quecksilber aus dem Harn in einfachster Weise abscheiden, wenn man ihn angesäuert mit metallischem Zink oder Kupfer einige Zeit in Berührung lässt. Aus dem gebildeten Amalgam wird das Quecksilber durch Erhitzen in ein Kapillarrohr getrieben und in diesem nach Schneider durch Joddampf in rothes Quecksilberjodid übergeführt und so kenntlich gemacht.

Ludwig verwendete Zinkstaub (6 g auf das Liter Harn), Fürbringer eine kleine Menge Messingwolle (in schmale Streifen zerschnittenes Rauschgold), Teubner sowie Paschkis unächtes Blattgold, F. Müller stark ausgeglühte Kupferfeilspähne, Wolff und Nega Kupferblech, Almen ausgeglühten sehr feinen Kupfer- oder besser Messingdraht, Brasse Messingdrahtnetz, Winternitz Kupferdrahtnetz, Jolles gekörntes Gold. Wolff lässt die Flüssigkeit an einem aus dünnen galvanisch vergoldeten Silberfäden gefertigten Pinsel, der die Kathode einer Batterie bildet, sehr langsam vorüberfliessen. Für den qualitativen Nachweis halte ich das unächte Blattgold für das passendste Material. Zinkpulver hält Bondzyński[1]) darum nicht für geeignet, weil es, bei einem Gehalt an Cadmium auch in so niederer Hitze, wie es für das Sublimiren des Quecksilbers erforderlich ist, einen Spiegel vom Aussehen des sublimirten Quecksilbers giebt.

Man nimmt ungefähr 500 cc Harn (vom Menschen) in Arbeit. Nach Winternitz muss man dem Harn mindestens 0,04 Vol. concentrirte Salzsäure zusetzen, wenn in ihm nicht Quecksilber zurückbleiben soll; man nimmt deshalb mehr Säure als das Minimum (bis 0.1 Volumen). Der Harn wird mit dem Metall einige Zeit (1 Stunde) auf dem Wasserbad erwärmt, dann noch mehrere Stunden stehen gelassen, darauf das Metall, um anhaftende organische Substanz zu entfernen, welche bei dem späteren Erhitzen des Metalls ein brenzliches Destillat geben würde, mit sehr verdünnter Natronlauge gewaschen (Paschkis) oder auch in der Wärme damit behandelt, weiter nach einander mit Wasser, mit Alkohol und mit Aether gewaschen und trocknen gelassen.

Eine vorherige Zerstörung der organischen Substanz ist beim Menschenharn nach Paschkis überflüssig, beim Hundeharn nach Böhm[2]) aber unerlässlich, weil sonst der grösste Theil (bis über 80%) des Quecksilbers mit dem auf Zusatz von Salzsäure entstehenden Niederschlag ausgefällt und so der Reaction entzogen wird. Böhm nimmt die Oxydation in der Weise vor, dass er den Hundeharn mit 1/3 Vol. Salzsäure von 1,12 Dichte auf dem Wasserbad erwärmt und alle 15 Min. 0,5—3 g chlorsaures Kali zusetzt. Das überschüssige Chlor muss vor dem Eintragen des Metalls vollständig entfernt werden, wozu ein 9—10stündiges Erwärmen auf dem Wasserbad bei einer 60° nicht erreichenden Wärme erforderlich ist. Darnach wird filtrirt und bei quantitativem Versuche unbedingt das Filter säurefrei gewaschen. Zucker- und eiweisshaltiger Harn lässt sich gleichfalls zu dem Versuch verwenden, nur stark schleimiger eignet sich schlecht (Fürbringer). — Ist der Harn sehr arm an Quecksilber, so soll man ihn nach Almén mit wenig überschüssiger Natronlauge mit oder ohne Zusatz eines reducirenden Zuckers 1/4 Stunde im Sieden erhalten, den Phosphatniederschlag, welcher das Quecksilber enthält, in Salzsäure lösen und dem angegebenen Verfahren unterwerfen. Nach Schillberg[3]) kann sich bei längerem Kochen etwas Quecksilber mit den Wasserdämpfen verflüchtigen; es genügt aber auch ein nur mehrere Minuten dauerndes Kochen.

---

1) E. Ludwig, Wiener med. Jahrbücher 1877. 143; Ztschr. f. analyt. Ch. **17**. 395; Med. Jahrb. 1880. 493; Ztschr. f. analyt. Ch. **20**. 475. — P. Fürbringer, Berl. klin. Wochenschr. 1878. 332. — E. Teubner, Oesterr. Ztschr. f. Berg- u. Hüttenwesen, **27**. 423; Ztschr. f. anal. Ch. **19**. 198. 1880. — H. Paschkis, Ztschr. f. physiol. Ch. **6**. 501. 1882. — F. Müller, Mittheilungen aus der med. Klinik zu Würzburg **2**. 358. 1886. — A. Wolff u. J. Nega, Deutsche med. Wochenschr. 1886. 256. 272; Ztschr. f. analyt. Ch. **26**. 116. — A. Almén, Jahresb. f. Thierch. 1886. 221; Ztschr. f. analyt. Ch. **26**. 669. 1887. — L. Brasse, Comptes rendus de la Soc. de Biol. 1887. 297; Revue de méd. **8**. 325. 1888. — R. Winternitz, Arch. f. exper. Pathol. **25**. 229. 1889. — C. H. Wolff, Repert. f. analyt. Ch. 3. 1883; Ztschr. f. analyt. Ch. **23**. 593. — A. Jolles, Monatshefte f. Ch. **16**. 684. 1895. — St. Bondzyński, Ztschr. f. anal. Ch. **32**. 302.

2) L. Böhm, Ztschr. f. physiol. Ch. **15**. 9. 1891.

3) Schillberg, Jahresber. f. Thierchemie 1886. 222.

Jodide sollen nach Schillberg die Ablagerung des Quecksilbers auf dem Metall verhindern; man fällt daher bei Gegenwart solcher den Harn mit Alkalihydrat nach Almén und wäscht den Niederschlag mit wenig Wasser jodfrei.

Das gereinigte und trockene, den Quecksilberbeschlag tragende Metall bringt man in ein dickwandiges, an dem einen Ende zugeschmolzenes Glasrohr, dessen Länge und Weite sich nach dem Volumen des Metalls richtet. Man zieht das offene Ende zu einer offenen Capillare aus, die jedoch nicht so eng sein darf, dass sie durch die später allenfalls auftretende geringe Wassermenge ganz verschlossen würde, weil das Wasser sublimirtes Quecksilber herausschleudern könnte. Das Rohr wird dann, von seinem geschlossenen Ende an bis zum Anfang der Capillare, über einem einfachen Gasbrenner erhitzt, wobei ein wenig Wasser, dann Quecksilber und wohl auch andere Substanzen (Zinkoxyd aus dem Messing etc.) in die Capillare destilliren. Das Quecksilber sammelt sich in der Regel hinter dem Wasser und vor den anderen fremden Substanzen in feinen Tröpfchen an, die mit einer Lupe erkannt werden können. Um das Quecksilber in Quecksilberjodid überzuführen, schneidet man die Capillare ab, bringt in ihr rückwärtiges Ende einen kleinen Splitter Jod und erwärmt dieses so, dass sein Dampf in die geneigte Capillare aufsteigen und in alle Theile derselben gelangen kann. Condensirtes Jod, welches die Erkennung des Quecksilberjodids erschweren würde, spült man vorsichtig mit etwas Aether aus der Capillare. Das Jodid erscheint dann unter der Lupe in kleinen Krystallen; meist entsteht zunächst das gelbe Jodid (rhombische Tafeln), welches sich seiner blassen Farbe wegen nur schwer erkennen lässt; dasselbe geht aber beim Liegen der Capillare früher oder später in das rothe (Oktaëder), schon mit blosem Auge wahrnehmbare über.

Nach diesem Verfahren lassen sich noch 0,2 mg Quecksilber in 200—300 cc sicher nachweisen.

Fr. Müller, sowie Alt[1]) erhitzen das Metall in einem weiten Rohre. Nach Müller soll es lang (30 cm) und ganz trocken sein. Der durch Einblasen von Joddampf (aus einem Splitter in einem Glasrohr erhitzten Jod) erzeugte rothgelbe Beschlag lässt sich durch vorsichtige drehende Bewegung des Rohrs über einer Flamme zu einem scharf begrenzten Ringe zusammendrängen, der dann leicht zu erkennen ist. Dabei stören die theerartigen Destillationsprodukte weniger als bei der Capillare.

Jolles versetzt 100—300 cc Harn mit 2 g gekörntem Gold, zu dessen Darstellung er ein Verfahren angiebt, ferner mit 1—3 cc Salzsäure und einigen cc frisch bereiteter Zinnchlorürlösung. Entsteht ein flockiger Niederschlag, so löst man ihn in Salzsäure. Man erwärmt auf 70—80°, setzt noch 30—35 cc Zinnchlorürlösung zu, rührt um und lässt 5 Minuten stehen. Der Niederschlag wird durch Decantiren chlorfrei gewaschen, das Quecksilber aus dem Amalgam durch einige Tropfen concentrirter Salpetersäure gelöst, die Lösung abgegossen, etwas verdünnt und mit Zinnchlorür auf Quecksilber geprüft. Es entsteht noch bei 0,2 mg eine deutliche Trübung. — Man kann auch das Quecksilber aus dem Amalgam abdestilliren und durch Jod nachweisen, wie bei der Verwendung der anderen Metalle.

Merget sowie Brugnatelli[2]) bedienen sich eigener Methoden zur Erkennung des Quecksilbers. Nach Merget soll man den Kupferdraht, auf welchem sich das Quecksilber niedergeschlagen hat, sanft gegen Papier drücken, das mit ammoniakalischer Silberlösung getränkt und im Dunklen getrocknet worden war; bei Gegenwart von Quecksilber entstehen auf dem Papier dunkle Flecke. — Brugnatelli bringt das amalgamirte Kupfer in eine Schale, daneben auf einem Scherben einen Tropfen 1proc. Goldchloridlösung und erwärmt die bedeckte Schale auf dem Wasserbade; auf dem Scherben erscheinen violettbraune oder rosenrothe Flecke, bei Gegenwart von viel Quecksilber auch glänzendes Gold.

---

[1]) Alt, Deutsche med. Wochenschr. 1886. 642.

[2]) Merget, Journ. de pharm. et de chimie [5] **19**. 444; Chem. Centralbl. 1889. **2**. 62. — E. Brugnatelli, La Riforma med. 1889. 825; Jahresb. f. Thierch. 1889. 217.

2. Arsen. Reichardt[1]) hat zum Nachweis des Arsens im Harn ein Verfahren zur Anwendung gebracht, welches auf der Abscheidung des Arsens als Sulphid und Zerlegung des Arsenwasserstoffs durch salpetersaures Silber beruht.

Der schwach angesäuerte Harn wird mit Schwefelwasserstoff gesättigt, der entstandene Niederschlag nach 12—24 Stunden abfiltrirt, ausgewaschen und das Filter mit Bromwasser ausgelaugt, wobei das gefällte Schwefelarsen in Lösung geht. Die Lösung giesst man in eine Gasentwicklungsflasche, in welcher aus reinem Zink und reiner Schwefelsäure ein mässig schneller Wasserstoffstrom entwickelt wird, und leitet das Gas in eine saure Lösung von salpetersaurem Silber (0,1—0,2 g salpetersaures Silber, 2 g Salpetersäure und 10 cc Wasser). Bei Gegenwart von Arsenwasserstoff in dem Gase entsteht dann in der Flüssigkeit ein schwarzbrauner Niederschlag von metallischem Arsen oder es setzt sich an der Spitze des in die Flüssigkeit eintauchenden Rohrs ein spiegelnder Anflug von der Farbe der Arsenflecke an. Wenn die Silberlösung über dem Niederschlag nicht mehr gefärbt ist, setzt man Bromwasser im Ueberschuss zu derselben, filtrirt das Bromsilber ab, befreit das gelbe Filtrat durch gelindes Erwärmen vom Brom, übersättigt mit Ammoniak und setzt Magnesiamischung zu. Nach 12—24 Stunden wird der entstandene Niederschlag von arsensaurer Ammon-Magnesia abfiltrirt, gewaschen, geglüht und gewogen. Nach dieser Methode lässt sich noch 0,0014 mg arsenige Säure nachweisen und 1—5 mg bestimmen. — Auf die Reinheit der Reagentien prüft man nach demselben Verfahren.

3. Antimon. Kleine Mengen Antimon (bis 1 mg und darunter) lassen sich nach Chittenden und Blake[2]) noch gewinnen, wenn man den Harn nach Zusatz von 0,04 Volumen verdünnter Schwefelsäure 16—48 Stunden lang elektrolysirt. Gute Resultate erhält man auch, wenn man das Antimon nach Zerstörung der organischen Substanz mit Schwefelwasserstoff fällt, den Niederschlag in Schwefelalkali löst und die Lösung nach Classen[3]) der Elektrolyse unterwirft.

4. Blei. Für die Abscheidung kleiner Mengen Blei aus Harn hat V. Lehmann[4]) zweckmässig befunden, die organische Substanz mit chlorsaurem Kali und Salzsäure zu zerstören, die Flüssigkeit einzudampfen, wieder zu verdünnen und mit einem Strom Schwefelwasserstoff zu behandeln; der ausgefallene schwarze Niederschlag ist dann weiter zu untersuchen. — Ebenso kleine Mengen Blei lassen sich durch directe Elektrolyse des Harns niederschlagen.

5. Silber wird nach Lehmann[5]) am Vollkommensten durch Glühen mit Salpeter und Soda abgeschieden. Der Harn wird dazu mit 10 g Salpeter und 6 g Soda auf 100 cc eingedampft, der Rückstand geschmolzen, die Schmelze in heissem Wasser gelöst, das zurück bleibende

---

1) E. Reichardt, Arch. d. Pharm. [3] **14**. 1; Ber. d. chem. Gesellsch. **13**. 1887 u. 2094. 1880.

2) R. H. Chittenden u. J. H. Blake, Studies from the lab. of physiol. chem. of Yale Univ. New Haven 1887. 68.

3) A. Classen, Ber. d. chem. Gesellsch. **17**. 2474 u. **18**. 1104.

4) V. Lehmann, Ztschr. f. physiol. Ch. **6**. 4. 1882.

5) Lehmann, a. a. O. 13.

metallische Silber in warmer, verdünnter Salpetersäure gelöst und die Lösung mit Salzsäure auf Silber geprüft.

6. Thallium. Der Nachweis des Thalliums im Harn gelingt nach W. Marmé[1]) leicht durch Elektrolyse des mit chlorsaurem Kali und Salzsäure behandelten und später eingeengten Harns. Das auf diese Weise an einem Platindraht fixirte und vorsichtig mit destillirtem Wasser gereinigte Metall bringt man direkt in die Flamme des Spectralapparats, wobei jedoch ausser der Kathode auch die Anode zu prüfen ist.

7. Cadmium. Nachweisung nach Marmé ebenfalls durch Elektrolyse des mit chlorsaurem Kali und Salzsäure behandelten Harns.

8. Lithium. Man verdampft eine genügende Menge des fraglichen Harns zur Trockne und verkohlt den Rückstand bei mässiger Hitze vollständig. Nach dem Erkalten zieht man die Kohle mit verdünnter Salzsäure aus, filtrirt, verdampft das farblose Filtrat zur Trockne, behandelt mit starkem Alkohol, filtrirt, verdunstet die alkoholische Lösung zur Trockne und prüft den jetzt gebliebenen Rückstand spectralanalytisch. Die Nachweisung des Lithiums ist in angegebener Weise nach innerlichem Gebrauch desselben, Neubauer jedesmal mit absoluter Sicherheit gelungen.

B. Säuren.

1. Pyrophosphorsäure. Den Nachweis der Pyrophosphorsäure, welche unverändert in den Harn übergeht, gründen Pacquelin und Joly[2]) auf den Umstand, dass die Pyrophosphate durch Salpeter-Molybdänsäure nicht gefällt werden, aber bei längerer Einwirkung concentrirter Säuren oder Alkalien in der Wärme in Orthophosphate verwandelt werden und nun durch Salpeter-Molybdänsäure fällbar sind.

2. Chlorsäure. a. Die Chlorsäure lässt sich im Harn nach Rabuteau[3]) leicht mittelst der Indigprobe nachweisen. Der Harn wird schwach mit Indigschwefelsäure und in genügender Menge mit schwefliger Säure versetzt; das Chlor, welches bei der Reduction der Chlorsäure durch die schweflige Säure frei wird, entfärbt den Indigo.

b. Einfacher gestaltet sich der Nachweis nach Edlefsen[4]), wenn man den Harn mit $1/4$ Volumen concentrirter Salzsäure erwärmt. Durch die Zersetzung des Indicans färbt sich der Harn dabei zunächst dunkelröthlich oder bläulichbraun; gleichzeitig wird aber die Chlorsäure durch organische Harnbestandtheile reducirt, und in Folge davon verschwindet in der Nähe des Siedpunkts die durch die Indigfarbstoffe bedingte Färbung des Harns und macht einer hellbräunlichen oder hellgelblichen Färbung Platz; schliesslich wird der Harn völlig entfärbt und entwickelt Lackmus bleichende Dämpfe. Es ist Edlefsen kein Harn vorgekommen, der so wenig Indican enthielt, dass die Probe nicht gelang. Fällt sie nicht überzeugend aus, so braucht man dem Harn nur noch etwas Indiglösung zuzusetzen.

c. Zum Zweck der quantitativen Bestimmung der in den Harn übergegangenen Chlorsäure fällt man nach Rabuteau[5]) den Harn vollständig mit salpetersaurem Silberoxyd aus, entfernt das überschüssige Silber aus dem Filtrat mit chlorfreiem kohlensauren Natron, filtrirt abermals, verdunstet zur Trockne und erhitzt den Rückstand zum Glühen. Das vorhandene chlorsaure Kali geht hierbei in Chloralkali über, dessen Menge sich leicht auf gewöhnlichem Wege bestimmen lässt.

---

1) W. Marmé, Ztschr. f. analyt. Ch. **6**. 503 u. 298.
2) Pacquelin u. Joly, Comptes rendus **85**. 410.
3) Rabuteau, Gazette méd. de Paris, 1868. 665; Ztschr. f. analyt. Ch. 8. 233.
4) Edlefsen, Archiv f. klin. Med. **19**. 94.
5) Rabuteau, Gaz. méd. de Paris, 1868. 666; Ztschr. f. analyt. Ch. 8. 233.

3. Jodwasserstoff. Man setzt das Jod durch salpetrige Säure oder durch Brom oder Chlor in Freiheit und weist es entweder durch Stärkelösung nach, oder indem man es durch Schütteln der Flüssigkeit mit Schwefelkohlenstoff (Chloroform, Aether, Petroleum, Benzol) in diesen überführt. Beim Nachweis entstehen dadurch Schwierigkeiten, dass der Harn nicht blos reichlich Jod bindende Substanzen enthält, sondern dass sich auch die Reagentien vor Allem mit dem Harnstoff umsetzen und so dem beabsichtigten Zweck entzogen werden. Ein Ueberschuss von Chlor oder Brom bindet das Jod und verhindert den Nachweis.

Nach Sandland[1]) färben 5 cc Harn, welcher in 100 cc nur 1 mg KJ enthält, auf Zusatz von 1 cc vierfach verdünnter Schwefelsäure und 1—3 Tropfen 0,2 proc. Natriumnitrit Schwefelkohlenstoff oder Chloroform noch deutlich rosa.

Zur Entwicklung des Jods eignet sich auch statt der salpetrigen Säure gelbe oder rothe Salpetersäure, Neubauer giebt der Reaction mit Bromwasser vor allen andern den Vorzug. Jolles[2]) mischt den Harn im Reagensglas mit dem gleichen Volumen concentrirter Salzsäure und überschichtet die Mischung mit 2—3 Tropfen schwachem Chlorwasser; selbst bei Gegenwart von nur wenig Jod entsteht an der Oberfläche eine braungelbe Schicht, die auf Zusatz von Stärkelösung blau wird.

Scivoletto tränkt Streifen von Filtrirpapier mit Stärkekleister, besprengt dieselben nach dem Trocknen mit dem auf Jod zu prüfenden Harn und hängt sie darauf frei in dem oberen Theil eines Kölbchens auf, an dessen Boden sich etwas rauchende Salpetersäure befindet. Bei Gegenwart von Jod färben sich die besprengten Stellen blau.

Alle diese Methoden können bei geringem Jodgehalt des Harns versagen. Sicher verfährt man, wenn man den Harn unter Zusatz eines Alkalihydrats oder -Carbonats verdampft, den Rückstand verkohlt und den wässrigen Auszug der Kohle für die Proben auf Jod verwendet.

Brücke empfiehlt dazu den Harn mit kohlensaurem Natron stark alkalisch zu machen. Castain versetzt ca. 0,5 Liter Harn mit 2 g Kaliumhydrat. Beachtenswerth ist in dieser Hinsicht, dass das käufliche Aetznatron (Natr. caust. fusum), auch das mit Alkohol gereinigte, nach Autenrieth[3]) immer (in 10—15 g) deutlich nachweisbare Mengen Jod enthält.

Das Jod geht schnell vollständig in den Harn über.

4. Bromwasserstoff. Den Harn direkt durch Zusatz von Chlorwasser und Ausschütteln mit Schwefelkohlenstoff zu prüfen, ist nach Rabuteau unzweckmässig, weil nur bei Gegenwart sehr grosser Mengen von Bromid eine Färbung des Schwefelkohlenstoffs eintritt. Man muss vielmehr den Harnrückstand vollständig, aber vorsichtig, verkohlen. Die Kohle zieht man mit Wasser aus, setzt in dem farblosen Filtrat das vorhandene Brom durch einen Tropfen Chlorwasser in Freiheit und schüttelt mit Aether oder Schwefelkohlenstoff in bekannter Weise.

Verabreichtes Brom erscheint langsam und in kleinen Mengen im Harn; nach einer täglichen Gabe von 2—6 g Bromnatrium bestimmten Nencki und Schou-

---

[1]) H. Sandland, Archiv d. Pharm. **232**. 177. 1893; Ztschr. f. anal. Ch. **34**. 124. 1895.

[2]) A. Jolles, Ztschr. f. anal. Ch. **30**. 288. 1891.

[3]) Brücke, Sitzungsber. d. k. Akad. d. Wiss. **63**. 2. Abth. 216. 1871. — Castain, Bull. de Thérap. **61**. 266. 1861. — W. Autenrieth, Ztschr. f. physiol. Ch. **22**. 512. 1897.

mow-Simanowsky[1]) in der Tagesmenge Harn 1—27 mg Bromwasserstoff. Ein grosser Hund, der 14 Tage lang täglich Bromnatrium erhielt, schied noch 4 Monate nach der letzten Gabe Brom aus, zuletzt nicht jeden Tag, regelmässig aber ungefähr 6 Wochen lang.

5. Bromsäure lässt sich nach Rabuteau[2]) noch in sehr geringen Spuren nach demselben Verfahren nachweisen, wie die Chlorsäure (B. 2 a).

§ 47. Organische Stoffe.

1. Alkohol geht nur nach dem Genuss grosser Mengen auf einmal in den Harn über; in zuckerhaltigem Harn kann er nach der Entleerung desselben durch Gährung entstehen. Er ist im Harndestillat zu suchen. — Mit Jodjodkalium und Natron- oder Kalilauge giebt er Jodoform wie das Aceton (S. 58), aber viel langsamer; Trennung des Acetons vom Alkohol § 5. C. 1. S. 59. — Schüttelt man verdünnten Alkohol mit Benzoylchlorid und überschüssiger Natron- oder Kalilauge anhaltend bis zur bleibenden alkalischen Reaction, so bildet sich Benzoësäureester, welcher am Geruch erkannt wird, während das überschüssige Benzoylchlorid geruchloses benzoësaures Salz liefert. Es lässt sich so noch 0,1% Alkohol nachweisen (Berthelot, Baumann[3]).

2. Glycerin. Das Glycerin erhöht die Dichte des Harns und bewirkt, dass der Harn reichlicher Kupferhydrat löst, als in der Norm; verdünnt man 5 g Glycerin mit Harn auf 50 cc. so löst die Mischung nach Zusatz von Natronlauge 0,2033 g CuO und Harn von anderem Gehalt an Glycerin diesem proportionale Mengen (Rubner). Der alkoholische Auszug glycerinhaltigen Harns schmeckt süss, löst bei Gegenwart von Natronlauge Kupferhydrat und giebt bei der Destillation mit saurem schwefelsauren Kali Acrolein (Luchsinger[4]).

3. Mannit wies Jaffé[5]) im Harn von mit Brod gefütterten Hunden nach eigenem Verfahren nach.

4. Chloroform. Die Menge des in den Harn übergehenden Chloroforms ist gering. In den 10 cc Harn, welche ein Hund nach 1/2 stünd. Narkose in den nächsten 4 St. entleerte, fand Pohl[6]) 0,39 mg Chloroform.

Chloroformhaltiger Harn reducirt Fehling'sche Lösung beim Kochen. Nach Thiem und Fischer giebt er direkt die Isonitrilreaction. Zur weiteren Untersuchung benutzt man das Harndestillat oder das aus diesem condensirte Chloroform. Um dieses zu erhalten, leiten Vitali und Tornani durch den auf 50° erwärmten Harn Kohlensäure und den entweichenden Dampf in eine mit Eis und Salz gekühlte Vorlage. In der condensirten Flüssigkeit etwa enthaltenes Chloral wird dadurch beseitigt, dass die Flüssigkeit (mit einem Wasserstoffstrom) wieder verflüchtigt und das Gas durch concentrirte Schwefelsäure geleitet wird, welche das Chloral zurückhält. Zu den Reactionen kann man sofort diesen zweiten Dampfstrom benutzen. Da aber Chloralhydrat als solches höchstens in Spuren in den Harn übergeht, wird man sich das Waschen mit Schwefelsäure in der Regel ersparen können. — Das Harndestillat reducirt Fehling'sche Flüssigkeit und ammoniakalische Silberlösung, während mit Aceton diese Reactionen nicht eintreten. Es giebt nach Vitali und Tornani, sowie nach Toth auch die Isonitrilreaction: man fügt das Destillat oder den Chloroformdampf zu einer Lösung von Anilin und

---

1) M. Nencki u. E. O. Schoumow-Simanowsky, Arch. des sc. biol. **3**. 197; Archiv f. exper. Pathol. **34**. 320. 1894.

2) Rabuteau, Gazette hebdomadaire 1868. 262.

3) Berthelot, Comptes rendus **73**. 496; Chem. Centralbl. 1871. 584. — E. Baumann, Berichte d. chem. Gesellsch. **19**. 3218.

4) Rubner, Ztschr. f. Biologie **15**. 257. 1879. — Luchsinger, Beiträge z. Physiol. u. Pathol. d. Glykogens. Zürich 1875. 38.

5) Jaffé, Zeitschr. f. physiol. Ch. **7**. 297.

6) J. Pohl, Arch. f. exper. Pathol. **28**. 252.

Kaliumhydrat in Alkohol; beim Erwärmen tritt der sehr unangenehme Geruch nach Phenylisonitril auf; statt Anilin kann man jedes andere Monamin verwenden. Chloral sowie Jodoform geben diese Reaction gleichfalls. — Chloroformdampf färbt eine feste Mischung von Phenol oder Thymol und Kaliumhydrat, besonders beim Erwärmen, carminroth oder violett (S. 151. 5. c.). — Mischt man das Destillat mit einer gelinde erwärmten Lösung von α- oder β-Naphtol in Kalilauge zusammen, oder lässt man den Chloroformdampf in eine solche Lösung einströmen, so tritt nach Lustgarten eine vorübergehende Blaufärbung der Flüssigkeit ein; nach Neudörfer und Kratschmer wird die Reaction noch mit 0,7 mg Chloroform erhalten, mit weniger nicht mehr. Chloral giebt diese Reaction auch. — Leitet man Chloroformdampf mit Luft und Wasserdampf durch ein rothglühendes Porzellanrohr, so tritt das Chlor des Chloroforms theils als solches, theils als Chlorwasserstoff auf und das gasförmige Produkt fällt Silberlösung. Bei Mangel an Sauerstoff kann sich aber nach Berthelot[1]) auch aus anderen flüchtigen Substanzen Acetylen und bei Gegenwart von Ammoniak Blausäure bilden, welche beide Silberlösung fällen. Die Fällung durch Acetylen verhütet man durch starkes Ansäuern der Silberlösung. Die Blausäure lässt sich ausschliessen, wenn man das gasförmige Produkt erst in Wasser auffängt und dieses zur Entfernung der Blausäure einige Zeit kocht. Man kann das Ammoniak auch durch starkes Ansäuern des Harns zurückzuhalten versuchen. Nach Toth verfährt man so, dass man den Harn im Wasserbad auf 70° erwärmt und das Chloroform durch einen Luftstrom austreibt. Leitet man Chloroformdampf über glühenden gebrannten Kalk oder gebrannte Magnesia, so entstehen die Chloride dieser Metalle.

5. **Chloralhydrat, Urochloralsäure.** Nach dem Gebrauch von Chloral finden sich von ihm höchstens Spuren im Harn (Vitali und Tornani). Man destillirt es nach Tiesenhausen am Besten aus dem Harn ab. Das Chloral giebt mit Monaminen und mit Naphtol dieselben Reactionen, wie das Chloroform. Vom Chloroform unterscheidet es sich dadurch, dass es Schwefelammon roth färbt (Ogston). — Urochloralsäure (S. 198) enthaltender Harn dreht links; nach gewöhnlichem Gebrauch von Chloral beträgt nach Bornträger[2]) α_D ungefähr — 1°. Zur polarimetrischen Untersuchung kann man den Harn mit Bleizucker klären; etwa vorhandenen Zucker beseitigt man durch Gährung. Solcher Harn reducirt Fehling'sche Flüssigkeit, giebt die Moore'sche Zuckerreaction, verhält sich gegen Indigschwefelsäure wie eine Zuckerlösung, giebt aber die Böttger'sche Probe nicht. — Ueber Darstellung der Urochloralsäure vergleiche die Seite 198 citirten Abhandlungen von v. Mering, E. und R. Külz.

6. Jodoform geht bei äusserlicher Anwendung nach Lustgarten nicht als solches in den Harn über, sondern nach Harnack und Gründler, sowie nach Quaedvlieg und nach Zeehuisen grösstentheils als Jodalkali, zum Theil auch als Jodsäure; bei Jodoformintoxikation kann nach Harnack das Jod zum grössten Theil in organischer Verbindung vorhanden sein, in der es nicht wie in Jodwasserstoff nachweisbar ist. Eine Vorschrift zum Nachweis des Jodoforms im Harn giebt Lustgarten[3]).

---

[1]) C. Thiem u. P. Fischer, Deutsche Medicinalztg 26. 1889; Chem. Centralbl. 1890. **1.** 409. — Vitali u. Tornani, Jahresber. f. Thierch. 1885. 89. — L. Toth, Jahresber. f. Thierch. 1887. 73. — S. Lustgarten, Monatshefte f. Ch. **3.** 722. 1882. — Neudörfer u. Kratschmer, Ztschr. f. Chirurgie **28.** 376. 1883. — Berthelot, Bull. de la soc. chim. [2] **36.** 71. 1881.

[2]) Vitali u. Tornani, Jahresber. f. Thierch. 1885. 89. — Tiesenhausen, Ztschr. f. analyt. Ch. **25.** 606. — Ogston, Ztschr. f. analyt. Ch. **21.** 124. — A. Bornträger, Ztschr. f. analyt. Ch. **20.** 314.

[3]) E. Harnack u. J. Gründler, Berl. klin. Wochenschr. 1883. 723. — Harnack, a. a. O. 1882. 298. — Quaedvlieg, Jahresber. f. Thierch. 1887. 218. — H. Zeehuisen, Nederl. Tijdschr. voor Geneesk. 1893. 1. 524; Jahresb. f. Thierch. 1893. 90. — S. Lustgarten, Monatshefte f. Ch. **3.** 715; Ztschr. f. analyt. Ch. **22.** 467.

7. Sulfonal erscheint nach Baumann als eine leicht lösliche, sehr beständige Schwefelverbindung, wahrscheinlich Aethylsulfonsäure, im Harn, nach Goldstein zum Theil unverändert. Seine Menge steigt mit der Dauer des Gebrauches, aber 3 Tage nach dem Aussetzen des Mittels ist es aus dem Körper verschwunden. Der Harn reducirt nach Lafon bei längerem Kochen Fehling'sche Flüssigkeit, dreht aber nicht rechts. Es lässt sich nach Goldstein sowie nach Morro dem (eingedampften) Harn durch Aether entziehen; zur Reinigung kann man es nach Morro mit Natronlauge eindampfen, den Rückstand in Wasser lösen und die Lösung mit Aetheralkohol behandeln, welcher das Sulfonal aufnimmt. Die erhaltenen Krystalle sind kenntlich an ihrem Schwefelgehalt, sowie daran, dass sie beim Erhitzen mit Holzkohlenpulver (Schwarz), mit Gallussäure oder Pyrogallussäure (Ritsert) oder beim Schmelzen mit Cyankalium (Vulpius[1]) Mercaptan entwickeln, was an seinem unangenehmen Geruch erkannt wird. Die Cyankaliumschmelze enthält Rhodankalium.

8. Salicylsäure und salicylsaure Salze färben sich mit Eisenchlorid, wie das Phenol, intensiv violett, nach Schulz mit Kupfervitriol smaragdgrün. Es lassen sich durch diese Reaction noch Spuren Salicylsäure nachweisen. Andere freie Säuren entfärben die Lösung, Schwefelsäure und Salpetersäure nach Pagliani erst dann, wenn sie in grossem Ueberschuss vorhanden sind (400 Theile auf 1 Salicylsäure), Salzsäure und namentlich Essigsäure schon in viel geringeren Mengen. Die Säure löst sich schwer in Wasser, leicht in Alkohol und in Aether, auch in Chloroform und in Benzol; sie sublimirt und ist mit Wasserdämpfen flüchtig. Natürlich saurem Harn lässt sie sich durch Schütteln mit Aether entziehen, aber aus ihm nicht abdestilliren (Fleischer[2]).

a. Nach dem Gebrauch von Salicylsäure entleerter Harn dreht links und reducirt Fehling'sche Flüssigkeit schwach.

b. Bei Gegenwart von 0,005% und noch weniger Salicylsäure im Harn gelingt der Nachweis derselben mit Eisenchlorid noch gut; weniger für den Nachweis kleinerer Mengen Salicylsäure als für die Entfernung anderer, sich mit Eisenchlorid gleichfalls färbender Harnbestandtheile empfiehlt sich aber nach dem Vorschlag von Robinet, den Harn vorher mit neutralem essigsauren Blei auszufällen, das überschüssige Blei durch verdünnte Schwefelsäure zu entfernen und das Filtrat mit Eisenchlorid zu versetzen. Ist die Flüssigkeit durch essigsaures Eisenoxyd roth gefärbt, so fügt man einige Tropfen verdünnter

---

1) E. Baumann, Jahresb. f. Thierch. 1889. 54. — F. Goldstein, Deutsche med. Wochenschr. 43. 1892. — Ph. Lafon, Comptes rendus **120**. 933. 1895. — W. Morro, Deutsche med. Wochenschr. 34. 1894. — C. Schwarz, E. Ritsert, G. Vulpius, Ztschr. f. anal. Ch. **27**. 665.

2) Schulz, Archiv d. Pharm. [3] **15**. 246; Ch. Centralbl. 1878. 694. — P. Pagliani, Ztschr. f. analyt. Ch. **18**. 475. R. Fleischer, Archiv f. klin. Med. **19**. 64 u. 78.

Schwefelsäure hinzu, wodurch die rothe Färbung zum Verschwinden gebracht wird und die violette des salicylsauren Eisenoxyds rein hervortritt. Da das Filtrat vom Bleiniederschlage manchmal schnell nachdunkelt, so darf man das Filtrat vor der Prüfung mit Eisenchlorid nicht lange stehen lassen. Dunkelt das Filtrat schon während des Filtrirens, so fällt man mit basisch essigsaurem Blei aus, wodurch aber ein Verlust an Salicylsäure herbeigeführt wird (Bornträger[1]).

c. Cazeneuve[2]) dunstet 100 cc Harn auf 10 cc ein, fügt 5 cc Salzsäure und 20 g gebrannten Gyps zu, bringt den Brei zur Trockne und erschöpft ihn in einem Extractionsapparat mit Chloroform. Das Chloroform wird abdestillirt und der Rückstand aus kochendem Wasser umkrystallisirt. Enthält der Harn nur Spuren Salicylsäure, so tritt sie zuletzt nicht in Krystallen auf und man muss sich begnügen, sie mit Eisenchlorid nachzuweisen. In dieser Form ist die Probe aber viel empfindlicher als die direkte Prüfung des Harns mit Eisenchlorid.

d. Da sich auch die Salicylursäure mit Eisenchlorid violett färbt, Salicylsäure aber beim Durchgang durch den Körper zu Salicylursäure wird, so lässt sich die Salicylsäure als solche nicht direkt im Harn nachweisen. Piccard[3]) verdampft daher den Harn, zieht den Rückstand mit Alkohol aus, verdunstet den Rückstand und behandelt diesen nach dem Ansäuern mit Aether, wobei die Salicylsäure zugleich mit der Salicylursäure in Lösung geht. Durch Sublimation erhält man die Salicylsäure rein. Die beiden Säuren lassen sich auch durch Krystallisation aus Aether oder Benzol trennen, wobei die (reichlicher vorhandene) Salicylsäure zuerst auskrystallisirt.

9. Salol (Salicylsäure-Phenylester) und Salophen (Salicylsäure-Acetylparaamidophenylester) werden beim Durchgang durch den Organismus in ihre Bestandtheile gespalten. Die Salicylsäure wird nach 8 nachgewiesen, das Acetamidophenol durch die Indophenolreaction (S. 614).

10. Pikrinsäure lässt sich dem Harn durch Schütteln mit Aether entziehen, ein Theil derselben nach Karplus[4]) erst nach dem Kochen desselben mit Salzsäure. Gelbe Krystalle. Die (gelbe) wässrige Lösung färbt Seide und Wolle ächt, giebt beim Erwärmen mit Cyankalium die rothe Isopurpursäure, mit Reductionsmitteln (Schwefelammon; Zucker und Lauge) die gleichfalls rothe Pikraminsäure.

11. Resorcin $C_6H_4(OH)_2$. Vergl. Carbolharn S. 513.

12. Guajacol $HO.C_6H_4.OCH_3$ u. Guajacolcarbonat $CO(O.C_6H_4.OCH_3)_2$. Das Carbonat zerfällt im Darm in Guajacol und Kohlensäure; auf medicinale Dosen erscheint das Guajacol nach Eschle als Aetherschwefelsäure und als gepaarte Glykuronsäure. Der Harn dreht (nach dem Entfärben mit Bleiacetat) stark links. Das Guajacol lässt sich aus dem bei alkalischer Reaction concentrirten Harn nach starkem Ansäuern mit Salzsäure mittelst Wasserdampf abtreiben. Auch Aether nimmt das (durch Erwärmen mit Salzsäure) in Freiheit gesetzte Guajacol aus dem Harn auf. Die alkoholische Lösung wird mit einer Spur Eisenchlorid blau, durch etwas mehr smaragdgrün. Das Harndestillat färbt sich nach Poggi mit Eisenchlorid vorübergehend blau, dann braun, trübt sich mit ammoniakalischer Silberlösung gelbgrün und giebt mit Bromwasser einen orangerothen, schnell kaffeebraun werdenden Niederschlag. Beim Erwärmen mit Chloroform und Kaliumhydrat färbt sich Guajacol violett (Lambert[5]).

---

1) Robinet, Comptes rendus **84**. 1321. — A. Bornträger, Ztschr. f. anal. Ch. **20**. 87.

2) Cazeneuve, Ztschr. f. analyt. Ch. **19**. 254.

3) Piccard, Ber. d. chem. Gesellsch. **8**. 817; Ztschr. f. analyt. Ch. **15**. 115.

4) F. P. Karplus, Ztschr. f. klin. Med. **22**. 210. 1893.

5) Eschle, Ztschr. f. klin. Med. **29**. 197. 1896. — Poggi, Ann. di chim. e di farm. **17**. 3. 1891; Jahresber. f. Thierch. 1893. 293. — L. M. A. Lambert, L'Union pharm. **33**. 17; Ztschr. f. anal. Ch. **32**. 235.

13. Thymol. Vgl. Carbolharne S. 513.

14. Naphtalin $C_{10}H_8$ und Naphtol $C_{10}H_7 . OH$. Naphtalin geht theils als α-Naphtolglykuronsäure (S. 199) und, wie die Reactionen des Harns annehmen lassen, wohl auch als eine β-Naphtolverbindung, theils, da sich der Harn beim Stehen, wie Dioxynaphtalin, $C_{10}H_6 (OH)_2$, schwärzt und nach Baumann u. Herter die Aetherschwefelsäuren in ihm vermehrt sind, wahrscheinlich als Dioxynaphtalin in den Harn über (Lesnik u. Nencki[1]). Auch kann er zugleich unverändertes Naphtalin enthalten (Baumann u. Herter).

a. Versetzt man frischen Harn mit einigen Tropfen Ammoniak oder Natronlauge, so tritt nach Edlefsen[2]), oft unter leichter Bräunung, eine blaue Fluorescenz auf, ähnlich der einer Chininlösung oder der von Petroleum, besonders nach starker Verdünnung des Harns. β-Naphtol fluorescirt nach Zusatz von Alkalien schön blau.

b. Versetzt man nach Edlefsen[2]) 5—6 cc frischen Harn mit 3—4 Tropfen Chlorkalklösung und einigen Tropfen Salzsäure, so färbt sich die Mischung in der Regel stark citronengelb. Aether färbt sich beim Schütteln mit der Probe rein gelb. Schichtet man den Aether auf eine wässrige (1 proc.) Resorcinlösung, fügt einige Tropfen Ammoniak zu und schüttelt, so färbt sich das Resorcin schön blaugrün und auf Zusatz von Salpetersäure hellkirschroth; Aether nimmt dann beim Schütteln mit der rothen Flüssigkeit eine schön rothe Färbung an. Die Reaction wird durch die Bildung von β-Naphtochinon $C_{10}H_6O_2$ bedingt. Auch der Harn giebt die Reaktion direkt, wenn er anfangs rein gelb wurde, aber nicht so schön als die ätherische Lösung. Indicanreiche Harne färben den Aether nicht blos gelb, sondern zugleich violett, doch wird das Resorcin noch grün.

c. Bringt man nach Edlefsen[2]) einige Tropfen Harn auf Fliesspapier, betupft die Stelle mit festem Diazoamidobenzol und erwärmt über einer Flamme, so färbt sich der Fleck roth oder umgiebt sich mit rothen Rändern (Bildung von Diazobenzol-β-Naphtol, B. Fischer und Wimmer[3]).

d. Lässt man nach Penzoldt zu einer Spur Naphtalinharn concentrirte Schwefelsäure fliessen, so färbt sich der aufschwimmende Harn sofort dunkelgrün, an der Grenze beider Flüssigkeiten ist die Färbung besonders schön und allmählich nimmt auch die Schwefelsäure dieselbe Färbung an. Später geht sie in grau- oder braungrün über. α-Naphtolglykuronsäure giebt nach Lesnik und Nencki[4]) dieselbe Färbung. β-Naphtochinon, welches sich mit Schwefelsäure auch grün färbt, kann nach Edlefsen die Reaction nicht veranlassen, da verdünnte wässrige Lösungen desselben oder Auflösungen von β-Naphtochinon im Harn die Färbung nicht zeigen.

e. Eine Lösung von α- oder β-Naphtol in starker Kalilauge färbt sich nach Lustgarten[5]) beim Erwärmen mit Chloroform oder festem Chloralhydrat auf 50° schön berlinerblau; beim Stehen wird die Flüssigkeit grün und endlich braun. Mittelst dieser Reaction hat Lustgarten nach äusserlicher Anwendung von Naphtol solches im Harn nachgewiesen. Von dem stark mit Salzsäure angesäuerten Harn

---

[1]) Baumann u. Herter, Ztschr. f. physiol. Ch. **1**. 267. — Lesnik u. Nencki, Archiv f. exper. Pathol. **22**. 171.

[2]) Edlefsen, Verhandl. des VII. Congresses f. innere Med. zu Wiesbaden 1888.

[3]) B. Fischer u. H. Wimmer, Ber. d. chem. Gesellsch. **20**. 1577. —

[4]) Penzoldt, Archiv f. exper. Pathol. **21**. 34. — Lesnik u. Nencki, Archiv f. exper. Pathol. **22**. 171.

[5]) Lustgarten, Monatshefte f. Ch. **3**. 720.

wurde die Hälfte abdestillirt, das Destillat mit Aether ausgeschüttelt, dem Aether das Naphtol durch Kalilauge entzogen, und mit dieser Lösung die Probe vorgenommen. Da aber die alkalische Lösung immer bräunlich ist, so ist die Färbung mehr grün. Ebenso lässt sich durch Aether aus dem Retortenrückstand noch Naphtol gewinnen; da aber dieser ätherische Auszug stark gefärbt ist, so verdunstet man, löst den Rückstand in Alkohol und entfärbt in gelinder Wärme durch Thierkohle; bei der Entfärbung in der Kälte kann wenig Naphtol von der Kohle ganz zurückgehalten werden. Auch empfiehlt es sich, den Auszug aus dem Destillat zu entfärben.

f. Naphtalinharn färbt sich beim Stehen dunkel (bis dunkelschwarzbraun), hellt sich aber manchmal wieder auf und bleibt bei Luftabschluss hell. Der hellgewordene Harn färbt sich nach Edlefsen auf Zusatz des gleichen Volumens concentrirter Essigsäure in 2—4—12 Stunden braungelb; Salzsäure oder Salpetersäure bewirken eine schnell vorübergehende Rothfärbung. Schüttelt man solchen Harn mit verflüssigtem Phenol, so wird er allmählich rosen- bis purpurroth, schneller auf Zusatz von 2—3 Tropfen Essigsäure. Wenn diese Reaction nicht mehr eintritt, so giebt der Harn mit Resorcin noch die β-Naphtochinonreaction (b), ohne Chlorkalk, sowie mit Alkalien die blaue Fluorescenz (a).

15. Copaiva. Nach dem Gebrauch von Copaivaöl wird der Harn, nach Quincke, auf Zusatz von Salzsäure rosen- und purpurroth und zeigt dann 3 Absorptionsstreifen, einen ziemlich verwaschenen α im Orange links von D, einen breiteren und viel dunkleren β im Grün zwischen D und E und einen breiten verwaschenen γ im Blau zwischen F und G, näher bei F. Die durch die Säure eintretende Trübung kann durch Alkohol beseitigt werden. Aehnlich wie die Salzsäure wirken auch die Salpetersäure und die Schwefelsäure, schwächer die Metaphosphorsäure und concentrirte Essigsäure; verdünnte Essigsäure ruft die Färbung gewöhnlich nicht hervor. Beim Erwärmen mit der Salzsäure wird der Harn nach le Nobel violett und der Streifen in Blau wird schwächer oder verschwindet ganz; Oxydationsmittel (Chlorkalk, Jodtinctur) befördern diese Reaction. Durch Chloroform, Schwefelkohlenstoff sowie Aether wird das Copaivaroth dem Harn nach Quincke nicht entzogen, wohl aber durch Amylalkohol oder alkoholhaltiges Chloroform. Nach le Nobel nimmt Aether, Amylalkohol, Petroläther die sich mit Säuren färbende Substanz aus dem Harn auf, Chloroform dagegen sehr schwer; sie löst sich auch in Alkohol. Der Harn selbst reducirt nach Quincke alkalische Kupferoxydlösung, aber nicht Wismuthoxyd; er dreht schwach links. Die Färbung des Harns durch Säure wird wahrscheinlich durch ein Terpen bedingt, wie ein solches Brix[1]) aus Copaivabalsam darstellte. Dasselbe färbt sich durch Salzsäure roth und violett. — Nach dem Gebrauch von Copaivabalsam bietet der Harn dieselben Erscheinungen dar; das Copaivaharz ist an ihnen nicht betheiligt.

16. Chrysophansäure und Santonin. Nach dem Gebrauch von Rheum reducirt der Harn Kupferhydrat (Grigge) sowie Wismuthoxyd (Proksch) in alkalischer Lösung. Dem Santoninharn ertheilt nach Jaffé[2]) das gebildete α-Oxysantonin starke Linksdrehung. Der nach dem Gebrauch von Rheum, Senna und Santonin entleerte Harn ist gelb oder grünlichgelb, icterischem ähnlich, wird auf Zusatz von Alkalien roth und nimmt beim Ansäuern wieder die ursprüngliche Färbung an (Heller, Kletzinsky, Rose, Natta, Smith). Die Färbung ist nach Rheum und Senna bedingt durch Chrysophansäure, nach Santonin nicht von diesem (Lewin), sondern von einem noch wenig bekannten Farbstoff. Auch nach äusserlicher Anwendung von Chrysarobin enthält der Harn Chrysophansäure

1) H. Quincke, Archiv f. exper. Pathol. **17**. 273. 1883. — C. le Nobel, Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1884. 17. — Brix, Monatshefte f. Ch. **2**. 507.

2) G. Grigge, Boll. chim. farm. 1895. 609; Chem. Centralbl. 1895. **2**. 322. — E. Proksch, Ztschr. des österr. Apotheker-Vereins **49**. 337; Ch. Centralbl. 1895. **2**. 65; 1897. **2**. 230. — Jaffé, Ztschr. f. physiol. Ch. **22**. 538. 1897.

(Lewin und Rosenthal[1]); sie geht aus diesem durch Oxydation hervor: $C_{30}H_{26}O_7 + 2\ O_2 = 2\ C_{15}H_{10}O_4 + 3\ H_2O$.

Nach I. Munk wird Rheumharn auch durch kohlensaure Alkalien sofort roth, Santoninharn nur langsam und allmählich; die Färbung des Rheumharns durch Alkalien ist beständig, die des Santoninharns verschwindet in 24—48 Stunden. Der durch Alkali roth gewordene Rheumharn wird bei der Digestion mit Zinkstaub entfärbt, der Santoninharn nicht. Rheumharn giebt beim Fällen mit Barytwasser oder Kalkmilch einen rothen Niederschlag und der Harn wird entfärbt; beim Santoninharn ist der Niederschlag farblos und der Harn bleibt roth (vgl. S. 551). — Wird der Harn nach dem Ansäuern mit Schwefelsäure mit Ammonsulphat gesättigt, so fällt nach Méhu mit anderen Substanzen auch die Chrysophansäure, oft in sehr geringer Menge, aus; beim Behandeln des Filters mit Ammoniak erhält man eine rothe Lösung, eine Reaction, welche jedoch wegen der gleichzeitigen Gegenwart von Hämatoporphyrin nicht eindeutig ist. — Nach Kletzinsky giebt Rheumharn mit essigsaurem Blei einen rosenrothen Niederschlag. Aus Santoninharn fällt nach Smith nicht Bleizucker, wohl aber Bleiessig den Farbstoff; er wird dem Niederschlag durch schwefelsäurehaltigen Alkohol entzogen. — Schüttelt man nach Penzoldt Rheumharn mit Aether, so nimmt dieser die Chrysophansäure auf und wird gelb, während Aether beim Schütteln mit Santoninharn farblos bleibt. Der ätherische Auszug aus Rheumharn färbt Kalilauge roth, der mit Santoninharn geschüttelte Aether lässt das Alkali ungefärbt. — Schüttelt man Rheumharn mit Salzsäure und Xylol und überschichtet das von der wässrigen Flüssigkeit getrennte Xylol mit Kalilauge, so entsteht nach Proksch[2]) an der Grenzfläche eine rosenrothe Färbung. Bei Verwendung von Salzsäure und Chloroform ist die Grenzschicht violett, mit schwefliger Säure und Chloroform rosenroth, mit Sulfanilsäure und Xylol weinroth.

Nach G. Hoppe-Seyler[3]) giebt mit Natron alkalisch gemachter Santoninharn den Farbstoff bis zur Entfärbung des Harns an Amylalkohol ab, dem alkalischen, Chrysophansäure enthaltenden Harn entzieht der Amylalkohol die Säure nicht oder nur in ganz geringer Menge. Aus saurem Santoninharn wird vom Amylalkohol Nichts aufgenommen; macht man den Harn aber erst alkalisch, dann mit Essigsäure sauer und lässt ihn längere Zeit stehen, so geht der nun entstandene gelbe Farbstoff in den Amylalkohol über, wird aber von diesem nicht an alkalihaltiges Wasser abgegeben. Aus sauer reagirendem Harn nimmt Amylalkohol die Chrysophansäure leicht auf; alkalisches Wasser färbt sich darauf mit dem Alkohol roth. Der durch Alkali geröthete Santoninharn verdunkelt, wie auch Smith angiebt, die rechte Seite des Spectrums von E an. Der roth gemachte Chrysophansäureharn zeigt keine charakteristische Absorption.

17. Aloe. Nach Meyer[4]) schüttelt man den Harn im Reagensglas mit dem gleichen Vol. Essigäther und versetzt den Auszug mit einem Tropfen Piperidin. Natal-Aloin wird dabei violettroth, in concentrirter Lösung tiefblau. Die Lösung von Barbados-Aloin wird zunächst gelb; schüttelt man darauf die Lösung mit verdünnter Essigsäure, so bleibt der gelbe Farbstoff (unverändertes Aloin) im Essig-

---

[1]) Heller, dessen Archiv **4**. 2. 1847. — Kletzinsky, Heller's Archiv [2] **1**. 186 u. 342. — E. Rose, Virchow's Archiv **16**. 233. 1859. — Natta, Ztschr. f. analyt. Ch. **4**. 494. — G. Smith, das. **10**. 254. — Lewin, Berliner klin. Wochenschr. 12. 1883. — L. Lewin u. O. Rosenthal, Virchow's Archiv **85**. 118.

[2]) I. Munk. Centralbl. f. die med. Wissensch. 1878. 411; Virchow's Archiv **72**. 136. 1878. — C. Méhu, Journ. de pharm. et de chimie [4] **28**. 164. 1878. — Penzoldt, Sitzungsber. d. physik.-med. Societät zu Erlangen 1884; Virchow-Hirsch's Jahresber. 1884. **1**. 148. — E. Proksch, Ztschr. d. österr. Apotheker-vereins **49**. 337; Chem. Centralbl. 1895. **2**. 65.

[3]) G. Hoppe-Seyler, Berliner klin. Wochenschr. 1886. 436; Ztschr. f. analyt. Ch. **26**. 267.

[4]) H. Meyer, Arch. f. exper. Pathol. **28**. 188. 1891.

äther und die wässrige Lösung erscheint violettroth. — Man kann sich auch der Reaction von Klunge bedienen. Dazu lässt man den Essigäther verdunsten und löst den Rückstand in wenig Alkohol; auf Zusatz einer Spur Kupfersulphat tritt Rothfärbung ein.

18. Basen.

I. Piperazin (Diäthylendiamin $HN(C_2H_4)_2NH$). Nach A. Schmidt und Wichmann wird die hauptsächliche Menge der Basis bereits nach wenigen Stunden ausgeschieden, der Rest erst in mehreren Tagen. Es geht unverändert in den Harn über. Nach Denselben weist man es am Besten in folgender Weise nach. Der Harn wird durch einige Tropfen Natronlauge von Erdalkaliphosphaten befreit, mit Salzsäure schwach angesäuert und bei 40° mit Jodwismuthkalium versetzt. Ein stets entstehender amorpher Niederschlag wird abfiltrirt. Nach einiger Zeit erscheinen, schneller beim Rühren (Gordon[1]), tief granatrothe rechtwinklige Täfelchen oder Stäbchen, einzeln oder zu Sternen angeordnet. Bei grösseren Mengen kann man auch die Benzoylverbindung durch Schütteln des Harns mit Benzoylchlorid und Natronlauge (S. 64) darstellen; sie krystallisirt aus dem Alkoholauszug des Niederschlags in rhombischen Täfelchen. Enthält der Harn nur wenig von der Basis, so destillirt man sie aus dem Verdampfungsrückstand nach Zusatz von festem Alkali und Sand ab.

II. Lysidin (Methylglyoxalidin, $C_2H_4 \left\langle \begin{matrix} NH \\ N \end{matrix} \right\rangle C.CH_3$. Der Harn wird nach Ladenburg[2]) auf ein kleines Volumen eingedampft, mit starker Natronlauge versetzt und wiederholt mit Chloroform ausgeschüttelt, welches das Lysidin aufnimmt. Nach dem Trocknen mit Kaliumcarbonat destillirt man das Chloroform ab, wobei das Lysidin meist in zerfliesslichen Krystallen zurückbleibt. Bei längerem Schütteln der wässrigen Lösung der Basis mit Benzoylchlorid und einem grösseren Ueberschuss an Natronlauge (S. 64) erhält man in Alkohol schwer lösliches bei 244° schmelzendes Dibenzoyläthylendiamin.

III. Anilin und Acetanilid (Antifebrin). Anilin $C_6H_5.NH_2$ erscheint nach F. Müller im Harn als Paramidophenol-Aetherschwefelsäure $H_2N.C_6H_4.O — SO_2.OH$, und bei reichlicher Zufuhr auch als Anilin. Zum Nachweis des Anilins hat F. Müller den Harn, ohne Zusatz, destillirt oder bei schwach alkalischer Reaction mit Aether ausgeschüttelt. Das Destillat (oder der Aetherauszug) giebt bei Gegenwart von Anilin einen Niederschlag mit Bromwasser und die Millon'sche Reaction, färbt einen mit Salzsäure befeuchteten Fichtenstab citronengelb, wird durch Chlorkalk violett, durch Chlorkalk und wenig sehr verdünntes Schwefelammon rosenroth, auf Zusatz von concentrirter Schwefelsäure und wenig Kaliumdichromatlösung vorübergehend blau, ferner nach Ehrlich auf Zusatz von Kairinlösung, verdünnter Salzsäure und Kaliumnitrit prachtvoll blau. — Zum Nachweis des Paramidophenols kocht man den Harn, um die Aetherschwefelsäure zu zersetzen, einige Minuten mit $1/_4$ Vol. starker Salzsäure und extrahirt entweder das Paramidophenol aus dem schwach alkalisch gemachten Harn mit viel Aether oder verwendet ihn ohne Weiteres zu folgender (Indophenol-) Reaction. Man versetzt den Harn nach dem Erkalten mit einigen Cubikcentimetern 3 proc. Phenollösung und fügt wenig verdünnte Chromsäurelösung (oder Chlorkalk, oder Eisenchlorid) hinzu. Bei Gegenwart von Amidophenol wird die Flüssigkeit roth und nach dem Uebersättigen mit Ammoniak (das Filtrat) prachtvoll blau. — Nach Dragendorff[3]) nimmt Chloroform oder Amylalkohol aus dem mit Salzsäure behandelten Harn einen prachtvoll rothen Farbstoff auf; manchmal ist der Auszug ungefärbt und wird erst an der Luft roth.

---

[1]) Albr. Schmidt u. G. Wichmann, Ber. d. chem. Gesellsch. **24**. 3237. 1891. — J. Gordon, Brit. med. Journ., Juni 1894; Ch. Centralbl. 1894. **2**. 710.

[2]) A. Ladenburg, Ber. d. chem. Gesellsch. **28**. 3069. 1896.

[3]) F. Müller, Deutsche med. Wochenschr. 1887. 27. — G. Dragendorff, Chem. Centralbl. 1887. 1382.

Das Acetanilid $C_6H_5 . NH - CO . CH_3$ geht nicht als solches in den Harn über, ist also auch nicht zu suchen, sondern beim Menschen zum Theil als Acetyl-Paramidophenol-Aetherschwefelsäure $HO . SO_2 - O . C_6H_4 . NH - CO . CH_3$, zum Theil als Paramidophenol- oder Acetylparamidophenol-Glykuronsäure (Mörner[1]), Jaffé und Hilbert; S. 200). Diese Verbindungen geben beim Kochen mit Salzsäure Paramidophenol, welches sich, wie angegeben, durch die Indophenolreaction nachweisen lässt. Nach dem Gebrauch von Antifebrin entleerter Harn dreht wegen seines Gehalts an gepaarter Glykuronsäure links und reducirt alkalische Kupferoxydlösung. Er ist reich an Urobilin und deshalb gesättigt rothgelb.

IV. Phenacetin (Acetparaphenetidin, Acet-p-Amidophenetol, der Aethyläther des Acetanilids $CH_3 . CO . HN - C_6H_4 . O . C_2H_5$), Lactophenin ($CH_3CH(OH)CO . HN - C_6H_4 . O . C_6H_5$) und Phenocoll (Glycocoll - Phenetidin, Amidoacetphenetidin, $H_2N . CH_2 . CO . HN - C_6H_4 . O . C_2H_5$). Nach dem Gebrauch von Phenacetin lässt sich, nach Fr. Müller, sowohl im Harn, wie im Aetherextract desselben Phenetidin (Para-Amidophenetol $H_2N.C_6H_4.O.C_2H_5$) nachweisen. Dazu führt man es in die Diazoverbindung über, welche mit Naphtol eine schöne purpurrothe, mit Phenol eine gelbe Verbindung giebt. Man versetzt den Harn im Reagensglas mit 2 Tropfen Salzsäure und ebensoviel 1 proc. Natriumnitritlösung und fügt einige Tropfen einer wässrigen alkalischen α-Naphtollösung zu. Macht man die Mischung alkalisch, so wird sie roth, beim Ansäuern darauf violett. In gleicher Weise nimmt der Harn mit Phenol eine citronengelbe Färbung an, die beim Ansäuern in rosenroth übergeht. — Kocht man nach Mörner[2]) den Harn mit Salzsäure, so giebt er darnach eine schöne Indophenolreaction. — Der Harn dreht nach Müller links, reducirt Kupferoxyd, gährt aber nicht, was auf die Gegenwart einer gepaarten Glykuronsäure zu beziehen ist; die linksdrehende Substanz wird nach Mörner auch durch Bleiessig und Ammoniak nicht gefällt und die Substanz, welche die Indophenolreaction giebt, bleibt dabei in Lösung.

Lactophenin-Harn giebt nach Sternberg sowie v. Jaksch[3]) die Indophenolreaction gleichfalls.

Nach Einführung von Phenocoll nimmt der Harn nach Mosso und Faggioli[4]) sehr bald auf Zusatz einiger Tropfen Natriumhypobromitlösung eine rubinrothe Farbe an.

V. Antipyrin (Dimethyloxychinizin) $C_9H_6N_2O(CH_3)_2$. Nach der Zufuhr von Antipyrin ist die Aetherschwefelsäure des Harns vermehrt, besonders nach grossen Gaben (F. Müller), beim Hunde mehr als beim Menschen (Cahn, Umbach). Der Harn färbt sich mit Eisenchlorid braunroth und behält diese Färbung auch beim Kochen (Alexander). Zusatz von Säure hebt aber die Färbung auf. Aether entzieht dem angesäuerten Harn eine Substanz, welche sich mit Eisenchlorid braun färbt (v. Jaksch). Kocht man den Harn mit Salzsäure, neutralisirt ihn mit Natronlauge und destillirt, so lässt sich nach Fr. Müller im Destillat Antipyrin (mit salpetriger Säure) nachweisen. Um das freie Antipyrin nachzuweisen, schüttelt man den angesäuerten Harn nach Blumenbach erst mit Petroläther, dann, nach dem Uebersättigen mit Ammoniak, mit Chloroform (oder Benzol, oder Amylalkohol) und verdunstet das Lösungsmittel. Eisenchlorid färbt eine verdünnte Antipyrinlösung intensiv rothbraun, in neutraler Lösung besser als in saurer (empfindlichste Reaction), salpetrige Säure (rauchende Salpetersäure) schön grün. Erwärmt man eine Lösung mit concentrirter Schwefelsäure und etwas rauchender

---

[1]) K. A. H. Mörner, Ztschr. f. physiol. Ch. **13**. 12. 1888.

[2]) Fr. Müller, Therap. Monatshefte, August 1888; Jahresb. f. Thierch. 1888. 149. — K. A. H. Mörner, Hygiea, Festbd. 1889; Jahresb. f. Thierch. 1889. 80.

[3]) C. Sternberg, Allg. Wiener med. Ztg. 1894. 369. Jahresb. f. Thierch. 1894. 64. — v. Jaksch, Centralbl. f. innere Med. 11. 1894.

[4]) U. Mosso u. F. Faggioli, Arch. f. exp. Path. **32**. 432. 1893.

Salpetersäure, so tritt Rothfärbung ein. Das Antipyrin giebt auch Alkaloidreactionen (Blumenbach, Schweissinger[1]). — Der Harn ist meist dunkel, besitzt aber kein Drehungsvermögen und reducirt nach dem Kochen mit Salzsäure nicht (Cahn).

VI. Eigentliche Alkaloide. Tanret[2]) sowie Bouchardat und Cadier empfehlen zum Nachweis der Alkaloide im Harn überhaupt eine mit Essigsäure angesäuerte Lösung von Jodquecksilberkalium. Das Reagens giebt zwar auch mit anderen Bestandtheilen normaler und pathologischer Harne Niederschläge, der Alkaloidniederschlag unterscheidet sich von diesen aber durch seine Löslichkeit in Alkohol und in der Wärme.

A. Chinin. a. Zum Nachweis des Chinins im Harn macht Vitali[3]) (nicht zu kleine Mengen) Harn mit Ammoniak alkalisch und schüttelt ihn mit Aether aus. Der Auszug wird nach Zusatz eines Tropfens Salzsäure verdunstet, der Rückstand in Wasser gelöst, die Lösung nochmals mit Ammoniak und Aether behandelt und der beim Verdunsten der ätherischen Lösung nun bleibende Rückstand zum Nachweis verwendet; bringt man den Rückstand unter Zuhilfenahme von etwas Säure in Lösung, fügt Chlorwasser oder Bromwasser und darauf Ammoniak hinzu, so entsteht eine intensiv smaragdgrüne Färbung; salzsäurefreies Chlorwasser und Ferrocyankalium färbt tief dunkelroth, bei grossem Ueberschuss an Chlor erst auf Zusatz von wenig Ammoniak.

b. Nach Personne[4]) fällt man den Harn mit Tannin, wäscht den Niederschlag aus, presst ihn ab, mischt ihn mit Aetzkalk und bringt die Mischung im Wasserbad zur Trockne. Der Rückstand wird mit Sand verrieben und (in einem Extractionsapparat) mit Chloroform erschöpft. Wird das Chloroform von dem Auszug abdestillirt, so bleibt das Chinin vermengt mit harziger Substanz zurück; verdünnte Schwefelsäure nimmt in der Wärme das Chinin auf und lässt die harzige Substanz ungelöst zurück.

c. Nach Binz[5]) lässt sich durch eine Lösung von 2 Theilen Jod und 1 Theil Jodkalium in 40 Theilen Wasser noch 1 g Chinin in 40 bis 50 l Harn entdecken.

d. Nach Herapath[6]) macht man den Harn durch etwas Kali alkalisch, schüttelt mit Aether und lässt den Aether verdunsten. Man bereitet sodann eine Probeflüssigkeit aus 12 g Essigsäure, 4 g rectificirtem Spiritus mit 6 Tropfen verdünnter Schwefelsäure. Von dieser Mischung setzt man einen Tropfen auf

1) Fr. Müller, Centralbl. f. klin. Med. 36. 1884. — A. Cahn, Berl. klin. Wochenschr. 36. 1884. — C. Umbach, Archiv f. exper. Pathol. 21. 163. 1886. — Alexander, Bresl. ärztl. Ztschr. 11. 1884. — v. Jaksch, Ztschr. f. klin. Med. 8. 551. 1884. — Blumenbach, a. a. O. 408. — Schweissinger, Ztschr. f. analyt. Ch. 24. 468. 1885.

2) Tanret, Journ. de pharm. et de chimie [5] 28. 433 u. 490; Chem. Centralbl. 1894. 1. 109 u. 111.

3) Vitali, Journ. de chim. méd. 1874. 210.

4) Personne, Bull. de l'Acad. de méd. 35. 1878; Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1879. 110.

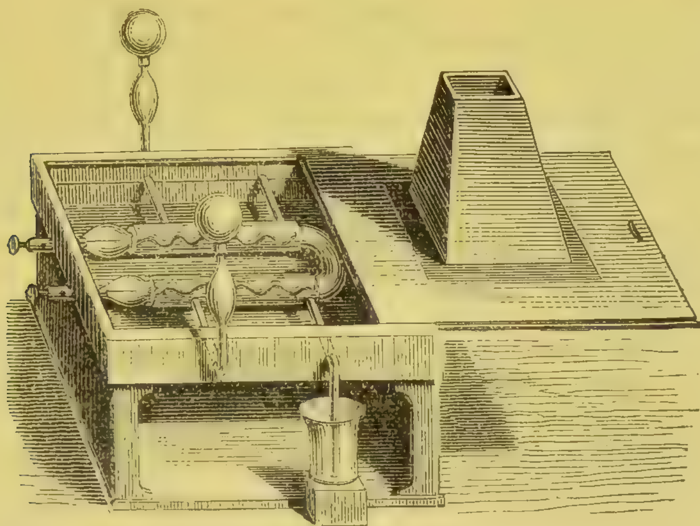
5) Binz, Ztschr. f. analyt. Ch. 9. 538.

6) Herapath, Journ. f. prakt. Ch. 61. 87. 1853.

das Objektgläschen, fügt etwas von dem Aether-Rückstande hinzu und bringt darauf ein höchst kleines Tröpfchen einer alkoholischen Jodlösung mittelst eines Glashaars damit in Berührung. Ist Chinin zugegen, so entsteht sogleich eine zimmetbraune Färbung, bedingt durch eine Jodchininverbindung und später erhält man das durch seine Polarisationserscheinungen merkwürdige schwefelsaure Jodchinin, welches man unter dem Mikroskop erkennt. Das schwefelsaure Jodchinin, $4\,C_{20}H_{24}N_2O_2,\ 3\,H_2SO_4,\ 2\,HJ,\ 2\,J_2 + 6\,H_2O$, krystallisirt in äusserst dünnen Platten, deren Polarisationsvermögen so stark ist, dass man sie statt der Turmalinplatten anwenden kann. Zwei Platten, so dünn wie Blattgold, lassen, sobald sie sich unter einem rechten Winkel kreuzen, gar kein Licht mehr durch.

e. Kerner verwendet zum Nachweis des Chinins im Harn seine Fluorescenz. Nach Kerner's Versuchen lässt es sich selbst noch bei zweimillionenfacher Verdünnung nachweisen. Da jedoch das vorhandene Chlornatrium die Fluorescenz aufhebt, so muss das Chlor zunächst entfernt werden, was am Zweckmässigsten durch eine concentrirte Lösung von salpetersaurem Quecksilberoxydul geschieht. Man versetzt 25 bis 50 cc Harn so lange mit dem Reagens, bis kein Niederschlag

Fig. 14.



mehr entsteht und ein kleiner Ueberschuss vorhanden ist, filtrirt und wäscht den Niederschlag aus. Von der ursprünglichen Harnfarbe ist höchstens noch ein lichtgelber Schein übrig und wenn nicht allzu kleine Mengen Chinin vorhanden sind, nimmt man schon während der Filtration bei Tageslicht die Fluorescenz wahr. Füllt man jedoch die Flüssigkeit in das in Fig. 14 abgebildete, von Kerner construirte Fluoreskop, so wird man, sobald der Inductionsstrom durch die Geissler-sche Fluorescenzröhre geht und man bei geschlossenem Deckel durch den pyramidalen Trichter beobachtet, noch bei zweimillionenfacher Verdünnung die Fluorescenz auf's Schönste eintreten sehen. Zum Vergleich füllt man zweckmässig nur den einen Schenkel der U-förmigen Röhre mit der Harnflüssigkeit, den anderen mit Wasser. Noch empfindlicher fällt die Reaction aus, wenn man die Harnflüssigkeit vor der Prüfung vollständig entfärbt, was am Einfachsten durch Einleiten einiger Blasen Schwefelwasserstoff zu erreichen ist, indem das ausfallende Quecksilbersulfür den letzten Rest von Farbstoff einschliesst. — Immer noch sehr deutlich aber minder scharf ist die Fluorescenz nach Flückiger[1]) zu erkennen, wenn man das Licht durch eine Loupe auf die in einem Reagensglas befindliche Lösung fallen lässt.

---

[1]) Kerner, Pflüger's Archiv 2. 230 u. 238; Ztschr. f. analyt. Ch. 9. 134. — A. Flückiger, Ztschr. f. analyt. Ch. 1. 373.

f. Nach Sestini und Campani[1]) werden die Reactionen des Chinins durch gleichzeitig anwesendes Phenacetin beeinträchtigt. Da jedoch das Phenacetin nicht als solches in den Harn übergeht, so kommen die beobachteten Störungen hier wohl nicht ohne Weiteres in Betracht.

B. Cinchonin. Die sauren Salze des Cinchonins geben mit Ferrocyankalium einen amorphen Niederschlag, der sich beim Erwärmen löst und sich beim Erkalten in Form goldgelber keilförmig zugespitzter Prismen wieder ausscheidet (Bill). Nach dieser Methode hat Seligsohn[2]) Cinchonin im Harn nachgewiesen.

C. Morphin. Um das Morphin aus Harn zu extrahiren, wird derselbe nach Dragendorff u. Kauzmann[3]) auf ein Viertel eingedampft, der Rückstand mit dem 3- bis 4fachen Volumen Alkohol, dem etwas Schwefelsäure zugesetzt ist, 24 Stunden stehen gelassen, die Lösung abfiltrirt, und der Alkohol von dem Filtrat abdestillirt; der Rückstand wird nach dem Erkalten durch ein feuchtes Filter filtrirt und bei saurer Reaction so oft mit je $^1/_4$ bis $^1/_2$ Volumen Amylalkohol geschüttelt, bis sich der Amylalkohol nicht mehr färbt; die Sonderung der beiden Flüssigkeiten lässt sich durch Erwärmen auf 60—80° beschleunigen. Färbt sich der Alkohol nicht mehr, so macht man die heisse Flüssigkeit mit Ammoniak alkalisch, schüttelt eine Zeit lang tüchtig, hebt den Amylalkohol ab und ersetzt ihn durch mindestens noch eine frische Portion Amylalkohol. Die letzteren Auszüge werden mit destillirtem Wasser gewaschen und ihnen das Alkaloid durch Schütteln mit wenigstens 2 Portionen des 10 bis 12fachen Volumen heissen schwefelsauren Wassers (etwa 1 Theil Säure auf 60—80 Theile Wasser) entzogen. Die wässrigen Lösungen werden auf ein kleines Volumen verdunstet und so lange mit Amylalkohol geschüttelt, bis dieser farblos bleibt. Darauf wird das Alkaloid wieder, nach dem Uebersättigen mit Ammoniak, durch erneute Mengen Amylalkohol aufgenommen, die Lösungen durch ein trocknes Filter filtrirt, der grösste Theil des Amylalkohols abdestillirt und der Rest im Wasserbad verdunstet. Ist der Rückstand für die Anstellung der Reaction noch nicht rein genug, so löst man ihn wieder in schwefelsaurem Wasser und reinigt ihn nochmals in der angegebenen Weise. — Statt dem alkalischen Amylalkohol das Alkaloid durch Schütteln mit saurem Wasser zu entziehen, kann man auch den sonst ganz in der beschriebenen Weise gewonnenen trockenen Rückstand wiederholt in saurem Wasser lösen und das Filtrat, nach dem Uebersättigen mit Ammoniak, mit Amylalkohol schütteln; man gelangt so schneller und ohne grossen Verlust zum Ziele. — Das Alkaloid bleibt bei diesen Darstellungen amorph zurück; um es krystallisirt zu erhalten, löst man den Rückstand in wenig starkem Alkohol und lässt die Lösung langsam ver-

---

1) F. Sestini u. R. Campani, L'Orosi **14**. 305; Chem. Centralbl. 1892. **1**. 184.
2) M. Seligsohn, Med. Central-Ztg. 17. 1861.
3) Dragendorff, Pharmac. Ztschr. f. Russland 1868. 4. Heft.

dunsten. Das Alkaloid krystallisirt dann in sternförmigen Drusen scharf begrenzter, schief abgestumpfter Prismen. — Es gelingt nach diesem Verfahren nur schwer, das Morphin vom Harnstoff zu befreien, doch stört dieser die Morphinreactionen nicht.

Landsberg[1]), welcher mit der Dragendorff'schen Methode keine positiven Resultate erhielt, brachte folgendes von Wislicenus entworfene Verfahren in Anwendung. Der Harn wurde nach Zusatz von Essigsäure zum Syrup verdunstet, der Rückstand wiederholt mit absolutem Alkohol in der Kälte ausgezogen, der Alkohol vom Filtrat abgedampft, der Rückstand mit Wasser ausgezogen und die Lösung nach Zusatz einiger Tropfen Essigsäure so oft mit Amylalkohol bei 70 ^{0} ausgezogen, bis sich der Alkohol nicht mehr färbte. Die rückständige saure wässrige Lösung wurde verdampft, der Rückstand alkalisch gemacht, wiederholt mit heissem Amylalkohol ausgezogen, und der Amylalkohol verdunstet.

Aehnliche Verfahren haben Warnecke, ferner Notta und Lugan, sowie Wormley angegeben. Schneider schüttelt den mit etwas Schwefelsäure versetzten Harn direkt mit Amylalkohol. Donath[2]) giebt der Fällung des Harns mit Jodquecksilberkalium den Vorzug.

Morphin färbt sich mit einer frisch bereiteten Lösung von molybdänsaurem Natron in concentrirter Schwefelsäure, welche im Cubikcentimeter 1—5 mg Molybdänsäure enthält, zuerst schön violett, dann blau, dann schmutzig grün (Fröhde). — Eine Lösung von Morphin in concentrirter Schwefelsäure, welche 12—15 Stunden gestanden hat oder kurze Zeit auf 150 ^{0} erwärmt wurde, färbt sich mit etwas verdünnter Salpetersäure oder einigen Körnchen Salpeter erst blauviolett und darauf dunkel blutroth (Husemann). — Eine neutrale concentrirte Lösung eines Morphinsalzes wird durch Eisenchlorid schön dunkelblau.

Dragendorff konnte nach dem Verfahren von Dragendorff und Kauzmann noch sehr kleine Mengen Morphin im Harn nachweisen, Schneider bei Thieren solches noch nach innerlicher oder subcutaner Anwendung von 0,03 bis 0,01 g. Beim Menschen mit gesunden Nieren fand es Marmé mit Sicherheit noch nach Verbrauch von 0,1 g, nach gleicher Dosis wiesen es auch Notta und Lugan noch mit Sicherheit nach; bei Thieren kann nach Marmé die Gabe geringer (0,01 g) sein. Aus dem Tagesharn von Morphinisten stellte Burkart[3]) nach der Zufuhr von 1,3—1,4 g Morphin soviel des Alkaloids dar, dass es bei Kaninchen einmal eine leichte, einmal eine schwere Vergiftung bewirkte. Landsberg hat nur einmal, nämlich nach intravenöser Einverleibung von 0,8 g, Morphin im Harn aufgefunden. Nach Donath geht das Morphin $C_{17}H_{19}NO_3$ im Organismus in Pseudomorphin (Dehydromorphin) $C_{17}H_{17}NO_3$ über.

D. Thein (Caffein) und Theobromin gehen im Thierkörper in Heteroxanthin (Monomethylxanthin, S. 333) über und daher findet man nach der Zufuhr dieser Basen Nichts oder nur einen kleinen Theil von ihnen im Harn wieder; da die Reactionen, mit welchen man sie nachweist, eine Verwechslung mit Xanthin und Heteroxanthin zulassen, so ist für eine Entfernung der Xanthinbasen Sorge zu tragen.

Hammarsten versetzt den Harn mit wenig Schwefelsäure, verdunstet auf ein kleines Volumen, lässt den Rückstand mit 3 Vol. Alkohol von 97 $^0/_0$ 12 St. in Berührung, verdunstet das Filtrat und schüttelt die rückständige Flüssigkeit 3—4 Mal mit dem halben Vol. Benzol. Schutzkwer, sowie Rost verfahren

---

[1]) E. Landsberg, Pflüger's Archiv **23**. 425.

[2]) H. Warnecke, Pharm. Ztg. **28**. 234; Ztschr. f. analyt. Ch. **22**. 635. — Notta und Lugan, Archiv d. Pharm. [3] **23**. 512; Ztschr. f. analyt. Ch. **25**. 145. — Th. G. Wormley, Chem. News **62**. 65, 79 und 99; Ch. Centralbl. 1890. **2**. 565. — R. Schneider, Ueber das Schicksal des Caffeins und Theobromins im Thierkörper nebst Unters. über den Nachweis des Morphins im Harn. Diss. Dorpat 1884; Ztschr. f. analyt. Ch. **24**. 302; Jahresber. f. Thierch. 1884. 235. — J. Donath, Pflüger's Archiv **38**. 528. 1886.

[3]) Marmé, Deutsche med. Wochenschr. 1883. 179. — R. Burkart, Schmidt's Jahrbb. **196**. 124.

in ähnlicher Weise, nehmen aber das Caffein mit Chloroform auf. — Schneider behandelt den Harn direkt mit Extraktionsmitteln. Da Petroläther dem Harn kein Caffein entzieht, Benzin weniger Unreinigkeiten aufnimmt als Chloroform, so schüttelt er den Harn zuerst, zur Entfernung von fremder Substanz, die in das Benzin übergehen würde, mit Petroläther, dann, bei alkalischer Reaction, mit Benzin und verdunstet dieses. Das Theobromin lässt sich dem Harn nach Schneider nur bei saurer Reaction und nur durch Chloroform entziehen. Nach diesen Methoden liess sich zwar das Caffein noch leicht nachweisen, welches Harn zugesetzt war, aber nicht mehr so nach der Einverleibung. Nur Maly und Andreasch[1]) gelang es, dem mit Chlorbaryum und Barymhydrat von Phosphaten befreiten Harn eines Hundes nach Verabreichung von 0.1 g Thein 0.066 g durch Chloroform zu entziehen. Der Auszug gab die Schwarzenbach'sche Reaction. Möglicher Weise liegt hier eine Verwechslung mit Xanthin und Heteroxanthin vor.

Vollständig gefällt werden diese Basen aus dem mit Salzsäure oder Schwefelsäure angesäuerten Harn durch Phosphorwolframsäure, zugleich aber mit den Xanthinbasen und der Harnsäure. Um diese auszuschalten, genügt es nicht, den Harn mit Bleiessig und Ammoniak auszufällen (Albanese). Albanese empfiehlt dazu den mit Essigsäure schwach angesäuerten Harn in der Wärme mit neutralem Kupferacetat auszufällen. Sicherer dürfte die Entfernung der Xanthinbasen und der Harnsäure gelingen durch Fällen mit Kupferoxydulsalz (S. 363), durch welches Caffein und Theobromin nicht niedergeschlagen werden (Balke, Krüger). Diese Trennung kann man auch ausführen, nachdem man den Phosphorwolframsäureniederschlag mit Baryumhydrat zerlegt und die Basen in Lösung gebracht hat (S. 364). Aus dieser Lösung lassen sich die Xanthinbasen auch durch ammoniakalische Silberlösung abscheiden, wobei Caffein und Theobromin in Lösung bleiben, beim Wegkochen des Ammoniaks fällt nur das Theobromin als Silbersalz aus (Kunze). Den Flüssigkeiten sind dann die gesuchten Basen durch geeignete Lösungsmittel (Chloroform und dergl.) zu entziehen. Rost[2]) zerlegt zum Aufsuchen des Theobromins den Phosphorwolframsäureniederschlag wie üblich mit Baryumhydrat, entfernt den überschüssigen Baryt mit Kohlensäure, trocknet das Filtrat auf Gyps ein, extrahirt im Soxhlet'schen Apparat mit Chloroform, verdunstet dieses, löst den Rückstand in verdünnter Natronlauge, versetzt mit ammoniakalischer Silberlösung und entfernt aus dem Filtrat das Ammoniak durch Kochen.

Das Thein bildet weiche biegsame Nadeln; auf Zusatz von Silbernitrat oder Sublimat entstehen auf dem Objektträger bald die Verbindungen der Basis mit diesen Salzen (Schneider); die Verbindung mit Silbernitrat bildet dichte gewimperte Kugeln, die mit Sublimat ein Haufwerk von Prismen. — Dampft man Caffein mit Salpetersäure im Wasserbad ein, so bleibt ein krystallinischer citronengelber Rückstand, welcher seine Farbe durch Ammoniak oder Natronlauge nicht ändert; verdampft man dagegen über freiem Feuer, so erhält man einen amorphen Rückstand, der sich in Ammoniak mit Pupurfarbe löst (Rochleder); Zusatz von Natronlauge bringt diese Färbung zum Verschwinden; im Ammoniakdampf wird der Rückstand rosenroth, Wasser löst ihn darauf purpurfarben.

Beim Verdunsten von Thein mit Chlorwasser (Salzsäure und chlorsaurem Kali) bleibt ein purpurrother Rückstand, der bei stärkerem Erwärmen goldgelb, durch Ammoniak aber wieder roth wird (Schwarzenbach); er verhält sich sonst wie der mit Salpetersäure erhaltene Rückstand. Die Reaktion tritt schon im Wasserbad ein.

---

1) Hammarsten, Virchow-Hirsch's Jahresb. 1870. **1**. 114. — N. Schutzkwer, Diss. Königsberg; Jahresber. f. Thierch. 1883. 209. — E. Rost, Arch. f. exp. Pathol. **36**. 56. 1895. — R. Schneider, a. a. O. — Maly und Andreasch, Monatsh. f. Ch. **4**. 383. 1883.

2) M. Albanese, Arch. f. exp. Pathol. **35**. 451. 455. 1895. — Balke, Journ. f. prakt. Ch. [2] **47**. 537. — M. Krüger, Ztschr. f. physiol. Ch. **18**. 355. — W. E. Kunze, Ztschr. f. anal. Ch. **33**. 25. 1894. — Rost, a. a. O. 65.

Das Theobromin bildet ein Krystallpulver. Giebt mit Sublimat ein Salz (Schneider), meist dichte Drusen kleiner Prismen. Die Verbindung mit Silbernitrat erscheint in Drusen grosser breiter Prismen. Beim Verdunsten von Theobromin mit Salpetersäure auf dem Wasserbad oder über freier Flamme bleibt ein graugelber Rückstand, der sich in Ammoniakdampf oder mit wässrigem Ammoniak kaum roth färbt, mit Natronlauge gelb. Gegen Chlor verhält sich das Theobromin wie das Thein, nur wird das mit Ammoniak behandelte Reactionsprodukt durch Natronlauge etwas mehr blau und hat diese Färbung Bestand.

E. Strychnin. Nach den übereinstimmenden Untersuchungen von Plugge und von Rautenfeld geht Strychnin als solches, und nicht als Strychninsäure in den Harn über; die Ausscheidung dauert mehrere Tage. Schultzen konnte es bei einer Strychninvergiftung nach folgendem Verfahren aus Harn darstellen. Der Alkoholauszug des verdunsteten Harns wurde eingedampft, der Rückstand mit Kali alkalisch gemacht und mit Aether ausgeschüttelt. Dieser hinterliess beim Verdunsten kleine vierseitige Säulen, welche in Wasser fast unlöslich waren, demselben aber einen intensiv bittern Geschmack ertheilten und mit chromsaurem Kali und Schwefelsäure die Strychninreaction gaben. — Kratter[1]) verdunstet den mit Schwefelsäure angesäuerten Harn auf $^1/_5$ Vol., kocht den Rückstand mit Alkohol, filtrirt den Alkohol nach dem Erkalten ab, engt das Filtrat ein und schüttelt die rückständige Flüssigkeit erst direkt und dann, nach dem Uebersättigen mit Ammoniak, mit Chloroform aus. Die nach dem Abdestilliren des Chloroforms bleibenden Rückstände werden mit concentrirter Schwefelsäure gelinde erwärmt, in Wasser gelöst, das Filtrat mit Ammoniak übersättigt und mit Chloroform ausgeschüttelt. Das Verfahren wird mehrfach wiederholt. Zuletzt lässt man die Chloroformlösung auf einem Uhrglas verdunsten. — Chloroform eignet sich nach Plugge am Besten zur Extraction des Strychnins.

Zum Nachweis der Substanz befeuchtet man den Rückstand mit concentrirter Schwefelsäure und fügt einen Splitter Kaliumdichromat hinzu, in dessen Umgebung die Flüssigkeit blau und violett wird.

III. Sedimente und Concremente.

Die Niederschläge, welche sich aus dem Harn beim Stehen desselben absetzen, bestehen entweder aus Gewebsbestandtheilen oder niedern in den Harn gelangten pflanzlichen Organismen (organisirte Sedimente), oder sie sind Niederschläge einfacher chemischer Körper und Verbindungen, welche unter den gegebenen Verhältnissen im Harn unlöslich sind (nicht organisirte Sedimente).

§ 48. Nicht organisirte Sedimente.

Als solche scheiden sich aus dem Harn nur schwer lösliche Säuren, wie Harnsäure (Hippursäure), Amidosäuren und andere in sauren Flüssigkeiten schwer lösliche Verbindungen: Cystin, Tyrosin, Xanthin, Bilirubin, Indigo und andere Farbstoffe ab; oder schwer lösliche Salze: harnsaure Salze, die Phosphate der alkalischen Erden, oxalsaurer, kohlensaurer, schwefelsaurer Kalk. Die Sedimentbildung findet erst nach der Entleerung des Harns oder auch schon in den Harnwegen statt.

---

[1]) P. C. Plugge, Jahresber. f. Thierch. 1885. 96. — P. v. Rautenfeld, Petersburger med. Wochenschr. 1. 1885; Jahresber. f. Thierch. 1885. 202. — Schultzen, Archiv f. Anat. 1864. 498. — J. Kratter, Wiener med. Wochenschr. 8—10. 1882.

1. Harnsäure und harnsaure Salze.

A. *Vorkommen.* Aus feurig gelben bis rothen sauren Harnen scheidet sich beim Stehen derselben nach der Entleerung häufig ein lehmgelbes bis lebhaft rosenrothes Sediment ab, welches im Anfang den ganzen Harn homogen trübt und sich nur langsam (im Verlauf von Stunden, selbst Tagen) zu Boden setzt. Bei gewissen fieberhaften Affectionen (Pneumonie, Rheumatismus) ist es gewöhnlich; es entsteht aber auch in concentrirten normalen Harnen.

B. *Eigenschaften.* Das aus saurem Harn abgeschiedene Sediment besteht nach Roberts wesentlich aus Quadriurat (§ 33. B. 3. c. ε. S. 319); nach den Analysen von Heintz, Scherer, sowie Bence Jones kann es alle im Harn vorkommenden anorganischen Basen (Ammoniak, Natron, Kali, Kalk, Magnesia) enthalten. Neben dem Quadriurat tritt häufig auch Kalkoxalat auf. Das Salz zersetzt sich leicht, namentlich in Berührung mit Wasser, in Biurat, welches in Lösung geht, und in Harnsäure, welche in grossen, gefärbten Krystallen zurückbleibt (Bence Jones, Roberts). In ammoniakalischem Harn besteht das Uratsediment aus krystallinischem Ammonbiurat (Taf. II. Fig. 3).

Keineswegs immer fällt die Harnsäure als Quadriurat aus, häufig tritt auch die Harnsäure sogleich frei auf in den S. 314 beschriebenen Formen. Alle Harne, welche kein Quadriurat absetzen, scheiden freie Harnsäure ab.

Das Uratsediment bildet feine Körnchen, die haufenweise bei einander liegen (Taf. II. Fig. 2). Erfolgt seine Ausscheidung in hydratischer Form, wie beim Harnsäureinfarkt der Neugeborenen, im frischen Vogel- oder Schlangenkoth, so bildet es durchscheinende, radiär gestreifte Kugeln (S. 319). Es löst sich beim Erwärmen des Harns schon unterhalb der Siedetemperatur wieder vollständig auf. Auf Zusatz einer Säure verschwinden die Körnchen und nach einiger Zeit treten an ihre Stelle Krystalle von Harnsäure.

Die Zersetzung desselben durch Wasser unter Abscheidung von Harnsäure lässt sich auch unter dem Mikroskop beobachten. In Berührung mit Wasser liefert es nach Roberts[1]) bald etwas mehr, bald etwas weniger Harnsäure, als der Formel des Quadriurats entspricht, was darin seinen Grund haben wird, dass sich ihm aus saurem Harn Harnsäure, aus minder saurem Biurat amorph beimischen.

Die Farbe der schmutzig gelben Sedimente rührt von Urochrom und von Urobilin her, von welchen das Urochrom chemisch gebunden ist, das Urobilin sich auswaschen lässt. Die rothen enthalten Uroerythrin (S. 583), welches sie an heissen Amylalkohol abgeben, ihre Lösung in heissem Wasser zeigt das Uroerythrin-Spectrum (S. 584). Natron- oder Kalilauge verwandelt ihre Farbe in grün. Wiederholt hat Garrod im Uratsediment auch metallisches Hämatoporphyrin (§ 44 C. I. B. 7 S. 570) angetroffen. Phenol entzieht den Uratsedimenten keinen Farbstoff (Kramm[2]). Bei Icterus kommt Gallenfarbstoff, in Carbolharn schwarzbrauner Farbstoff in ihnen vor. Bei der Zersetzung der Sedimente (durch Wasser oder durch Säuren) bleiben die Farbstoffe in der entstehenden Harnsäure haften.

---

[1]) Sir W. Roberts, On the chemistry and therapeutics of Uric Acid Gravel and Gout. London 1892. 27.

[2]) W. Kramm, Deutsche med. Wochenschr. 1896. 44.

Nach den Untersuchungen von Garrod[1]) rührt die gelbe bis braune Farbe der spontan entstandenen wetzsteinförmigen Harnsäure von Urochrom her; Urobilin ist in ihnen nicht enthalten. Aus uroerythrinreichen Lösungen (Harn) abgeschiedene Harnsäure bildet zartrothe oder orangefarbene, meist unregelmässig prismatische, auch in Rosetten und Kreuzen angeordnete Krystalle; in Masse sehen die Krystalle schön roth aus. Die Grundfarbe der Wetzsteinformen ist immer durch das Urochrom bedingt. Meist enthalten solche Krystalle, die sich spontan schnell ausgeschieden haben, auch Uroerythrin. Blos urochromhaltige Krystalle kommen vor, blos uroerythrinhaltige nicht.

Die Krystalle aus bilirubinreichem Harn erscheinen in Masse röthlich braun, einzeln orange, die aus biliverdinreichem Harn in Masse lederbraun, einzeln grünlich; sie bilden oft Rosetten prismatischer Krystalle. Die in Carbolharn entstandenen Krystalle sind tiefbraun und fast undurchsichtig, in Masse vollkommen schwarz. Blut und die Indigfarbstoffe betheiligen sich nicht an der Färbung der spontan entstandenen Harnsäure.

Die mit Säuren ausgefällte Harnsäure verdankt ihre röthlich braune Farbe höchst wahrscheinlich grossentheils den schwarzen Zersetzungsprodukten des Urochroms (Uromelanin von Thudichum); manchmal sind sie, wie bereits Heller beobachtete, von Indigblau und Indigroth gefärbt. Wenn das Eisen, welches Kunkel in Harnsäure fand, die mit Salzsäure gefällt war, wirklich einem Farbstoff angehört (§ 44. C. VII. 3. S. 598), so ist das keiner der hier erwähnten.

In einem Harn, der ein Uratsediment enthält und nachträglich ammoniakalisch geworden ist, kann man das harnsaure Ammon noch neben den Körnchen des Quadriurats und der Harnsäure antreffen.

Das Quadriurat im Harninfarct der Neugeborenen ist nach Flensburg in eine hyaline Eiweissubstanz, wahrscheinlich mucinähnliche Substanz, eingelagert. — Nur der Vogelharn kommt im unzersetzten Zustande zur Beobachtung, so dass sich die hydratischen Kugeln des Quadriurats leicht wahrnehmen lassen; auch hier begleitet eine schleimige Substanz das Urat (S. 329). Der Schlangenharn verweilt nach Roberts[2]) 1—7 Wochen im Leibe der Schlangen und kommt daher zersetzt zum Vorschein. Nach einer Untersuchung von Roberts enthielt der Vogelharn Ammoniak und hinterliess 8,68% Asche, hauptsächlich Kalium und Natrium, eine Spur Eisen, geringe Spuren Calcium, Kieselsäure, Schwefelsäure, Phosphorsäure. Der Schlangenkoth reagirt sauer und enthält neben Quadriurat etwas freie Harnsäure; in feuchtem Zustand wird er leicht zu Ammonbiurat. Roberts fand in demselben 82,88% Harnsäure, 3,33% Kali, 1,06% Natron, 1,92% Ammoniak und 10,83% Wasser, andere organische Substanz, Eisen, Spuren Kalk. Als Quadriurat waren 80,71% der Harnsäure vorhanden, als freie 2,09%.

Ein eigenthümliches Sediment, welches vielleicht aus Calciumurat bestand, hat Delépine[3]) manchmal neben Calciumoxalat, auch bei Gicht, beobachtet. Es bildet selbst in heissem Wasser unlösliche, farblose, prismatische Krystalle vom Aussehen des Natriumbiurats, giebt die Murexidreaction und zersetzt sich mit Salzsäure schwerer als das gewöhnliche Uratsediment. Die Krystalle entstehen auch beim Behandeln von Harnsäure oder Uratsediment mit Kalkwasser oder hartem Wasser.

C. *Bildung.* Das Auftreten eines Sediments von Quadriurat und von Harnsäure erklärt sich am Einfachsten unter der Annahme, dass der Harn ursprünglich, unmittelbar nach seiner Secretion, Biurat enthält, jedoch niemals in solchen Mengen, dass es aus dem Harn aus-

---

[1]) A. E. Garrod, Proc. of the Roy. Society 55. 404. 1894; Journ. of Path. and Bacteriol. Novbr. 1894. 100.

[2]) C. Flensburg, Nord. med. Arkiv, 1894; Jahresb. f. Thierch. 1893. 581. — Roberts, a. a. O. 20.

[3]) S. Delépine, Journ. of Physiol. 8. II. 1887.

krystallisirt. Durch das gleichzeitig gegenwärtige, zweifach saure Phosphat wird es aber, entsprechend der schwachen Acidität des sauren Salzes, langsam in das schwerer lösliche Quadriurat übergeführt. Entsteht von diesem mehr, als der Harn in Lösung erhalten kann, so scheidet sich dieser Ueberschuss als Uratsediment ab. An dem in Lösung gebliebenen Quadriurat schreitet aber unter der Einwirkung des zweifach sauren Phosphats (und des Harnwassers) die Zersetzung fort unter Bildung von freier Harnsäure, welche sich absetzt und eines nur geringen Restes von Biurat, welches in Lösung bleibt. Bildet sich nicht so viel Quadriurat, dass ein Theil davon ausfallen muss, so erleidet das in Lösung befindliche Salz selbstverständlich dieselbe Zersetzung, wie der vorher in Lösung gebliebene Antheil desselben.

Es ist überflüssig zu bemerken, dass zwischen dem zweifach sauren Phosphat, dem Biurat, dem Quadriurat und dem neugebildeten einfach sauren Phosphat, ein Gleichgewichtszustand eintreten wird, und dass das zuletzt noch übrige Biurat in dieses Gleichgewicht mit eingeht. Auf die Menge des möglichen Quadriurats wird nicht nur die Menge der Harnsäure, sondern auch die Menge des zweifach sauren Phosphats und das Verhältniss zwischen zweifach und einfach saurem Phosphat von Einfluss sein.

Auch solcher Harn, welcher spontan kein Quadriurat absetzt, enthält solches Salz gelöst. Oft liefern solche Harne bei starkem Abkühlen noch ein Uratsediment, und wo dies nicht der Fall ist, geschieht die Abscheidung noch, wenn man nach Roberts den Harn im Wasserbad auf ein kleines Volumen eindampft, heiss filtrirt und das Filtrat in Eis stellt; das Erwärmen wird freilich die Bildung von Quadriurat befördern. Nur aus Eiweissharnen erhält man nach Zoja[1]) durch Abkühlen kein Uratsediment.

Die Abscheidung der freien Harnsäure aus Harn geht nach Roberts um so früher zu Ende, je früher sie anfängt. Zeigt sich die erste Harnsäure innerhalb 24 St. nach der Entleerung, so ist die Abscheidung in einigen Stunden beendet; beginnt sie erst nach einer Woche oder später, so dauert sie einige Tage. Der Harn enthält dann keine durch Salzsäure fällbare Harnsäure mehr. Wie aus den Zahlen von Zerner[2]) hervorgeht, erfolgt die Ausscheidung der freien Harnsäure bei jedem Verhältniss zwischen einfach und zweifach saurem Urat. Sie wird nach Roberts beschleunigt durch einen hohen Gehalt des Harns an Harnsäure, verzögert, wie es scheint, durch die Harnfarbstoffe.

Die oben aufgestellte Ansicht über die Verbindung, in welcher sich die Harnsäure im Harn vorfindet, erklärt einige Wahrnehmungen, welche man am Harn und an der Harnsäure gemacht hat.

Der von Voit und Hofmann geführte Nachweis, dass mit dem Auftreten des Uratsediments die Acidität des Harns abnimmt, erklärt sich aus der Abscheidung des dreifach sauren Urats aus dem Harn. Diese Beobachtung widerlegte die früher gehegte Meinung, dass die Bildung des Uratsediments die Folge einer Säuerung des Harns sei.

Das Quadriurat ist schwerer löslich als das Biurat, aus welchem es entsteht, und daraus erklärt sich die gleichfalls von Voit und Hofmann[3]) nachgewiesene

---

[1]) Sir Roberts, a. a. O. 31. — L. Zoja, Arch. ital. di clin. med. **32**. 11. 1893.

[2]) Sir Roberts, a. a. O. 39. — Th. J. Zerner, Wien. klin. Wochenschr. 1893. 272.

[3]) Voit u. F. Hofmann, Sitzungsber. d. k. bayer. Akad. d. Wissensch. 1867. **2**. 279; Ztschr. f. anal. Ch. **7**. 397.

Thatsache, dass sich das Uratsediment in dem Harn, aus welchem es ausgefallen ist, nicht wieder bei Bluttemperatur löst.

Filtrirt man Harn durch ein Filter, auf welchem sich Harnsäure befindet, so kann man ihm, wie Pfeiffer zuerst gezeigt hat, die Harnsäure so weit entziehen, dass Salzsäure keinen Niederschlag mehr giebt. In diesem Fall beschleunigt die freie Harnsäure die Abscheidung der Harnsäure aus dem leicht zersetzlichen Quadriurat in derselben Weise, wie die Ausscheidung einer Substanz aus ihrer übersättigten Lösung durch feste Substanz derselben Art (durch „Impfung") beschleunigt wird. Bei Gicht und bei Steinkrankheit genügt dazu nach Pfeiffer 0,5, selbst nur 0,2 g Harnsäure; bei Gesunden sind 2—3 g erforderlich. Wieviel von der Harnsäure des Harns beim Filtriren durch Harnsäure ausfällt, hängt nach Roberts[1]) ab von der Acidität des Harns, dem Gehalt des Harns an Harnsäure, der Schnelligkeit des Filtrirens und der Menge des Harns.

Mit der Erklärung der Thatsache, dass Harne, welche kein Quadriurat abscheiden, ein Sediment von freier Harnsäure liefern, steht die von Pfeiffer[2]) gemachte Beobachtung im Einklang, dass sich aus einfach saurem Phosphat, in welchem Harnsäure bis zum Eintritt der neutralen (amphoteren) Reaction gelöst wurde, die Harnsäure allmählich fast vollständig unter Wiederkehr der alkalischen Reaction abscheidet, schneller bei der Behandlung der Lösung mit schwachen Säuren wie Kohlensäure oder zweifach saurem Phosphat.

Woher es kommt, dass nach Zusatz von Salzsäure zu Harn mehr Harnsäure in Lösung bleibt, als das Harnwasser lösen kann, ist noch nicht in befriedigender Weise erklärt worden. Rüdel vertritt die Ansicht, dass der Harnstoff die Harnsäure in Lösung halte (§ 33. B. 3. c. δ. S. 318).

D. *Nachweis.* Ein Sediment, welches in saurem Harn auftritt, kann nur ein Uratsediment sein, vorausgesetzt, dass nicht organisirte Elemente das Sediment bilden. Man erkennt es leicht an seiner Form bei der mikroskopischen Untersuchung und an den unter B. angeführten Reactionen. Es ist ferner daran kenntlich, dass es sich beim Erwärmen einer Probe des Harns im Reagensglas löst. — Das harnsaure Ammon tritt nur in alkalisch reagirendem und ammoniakalisch riechendem Harn auf und ist durch seine Form gleichfalls gekennzeichnet; auch dieses liefert bei der Behandlung mit Säuren Harnsäure. Sämmtliche harnsaure Salze entwickeln beim Glühen Blausäure und geben wie die Harnsäure die Murexidreaction (S. 325).

2. Oxalsaurer Kalk.

A. *Vorkommen.* Der oxalsaure Kalk scheidet sich aus normalem und pathologischem Harn ab. Die Umstände, von denen sein Auftreten abhängt, sind nicht mit Sicherheit bekannt: auch ist es nicht mit bestimmten pathologischen Zuständen verknüpft.

---

1) E. Pfeiffer, Verhandl. des V. Congresses f. innere Med. 1886. 445; des VII. Congr. 1888. 326; des VIII. Congr. 1889. 172. — Sir Roberts, Lancet Jan. 4. 1890; Jahresb. f. Thierch. 1891. 403; a. a. O. 43.

2) Pfeiffer, a. a. O. VII. Congress 331.

B. *Eigenschaften.* In den Sedimenten erscheint er in zwei verschiedenen Formen, nämlich in wohl ausgebildeten, dem tetragonalen System angehörigen Krystallen und in platten sphäroiden Formen. Die Krystalle sind zumeist Oktaëder, deren Hauptaxe fast regelmässig bedeutend kürzer ist, als die Nebenaxen, so dass man bei der Besichtigung eines solchen Krystalls die Kreuzung der Oktaëderkanten deutlich wahrnimmt; das Bild erinnert an ein Briefcouvert (Taf. II, Fig. 2). In andern seltneren Fällen sind die Mittelkanten des Oktaëders durch das Protoprisma abgestumpft und man hat dann kürzere oder längere Prismen mit pyramidalen Endflächen vor sich, wie sie Fig. 15 nach von Feser u. Friedberger[1]) im Pferdeharn aufgefundenen Krystallen zeigt. In noch seltneren Fällen treten Zwillinge von Oktaëdern auf. — Die sphäroiden Formen stellen platte, ovale oder nahezu kreisrunde Scheiben mit centraler Grube dar, und erscheinen von der Seite gesehen sanduhrförmig (Fürbringer; Fig. 16 nach Feser u. Friedberger). Häufig lassen sie eine feine radiäre Streifung wahrnehmen. Golding Bird fand diese Scheiben doppelbrechend, während er an den Oktaëdern (offenbar wegen ihrer ungünstigen Lagerung) keine Doppelbrechung beobachtete. Vielleicht gehören die sphäroiden Platten dem monoklinischen System an (§ 15. B. 3. S. 205).

Fig. 15.

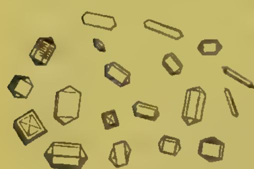


Fig. 16.

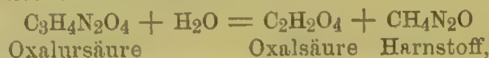


Die Oktaëder sind meist farblos, können aber in ikterischem Harn wegen Einschlusses von Gallenfarbstoff auch gelb erscheinen (Fürbringer); sie sind durchsichtig und brechen das Licht stark.

Beiderlei Formen des Kalkoxalats sind in Wasser unlöslich, von Essigsäure und Oxalsäure werden sie ebenfalls nicht merklich angegriffen, von Mineralsäuren aber leicht gelöst.

C. *Bildung.* Der oxalsaure Kalk wird im Harn vom zweifach sauren Phosphat in Lösung erhalten. Es ist wahrscheinlich, dass das Lösungsvermögen des Phosphats in der Kälte geringer ist als in der Wärme und dass deswegen beim Abkühlen des Harns Kalkoxalat ausfällt. Kommt es zur Bildung eines Uratsediments, so wird mit der Abnahme der sauren Reaction des Harns (d. § I. C.) zweifach saures Phosphat in einfach saures übergeführt und dem Kalkoxalat Lösungsmittel entzogen. Da sowohl das Erkalten des Harns als die Bildung des einfach sauren Phosphats langsam erfolgt, scheidet sich das Oxalat krystallinisch und nicht amorph ab. In Fällen, in welchen saurer Harn schon bei der Entleerung Kalkoxalatkrystalle enthält, könnte ihre Bildung dadurch zu Stande gekommen sein, dass der Harn im Verhältniss zum zweifach sauren Phosphat einen Ueberschuss an Oxalsäure enthalten hat.

Aeltere englische Autoren, denen sich später auch Schunck anschloss, waren der Meinung, dass sich die Oxalsäure des Harns erst durch Zersetzung der im normalen Harn enthaltenen Oxalursäure bilde:



$$C_3H_4N_2O_4 + H_2O = C_2H_2O_4 + CH_4N_2O$$

Oxalursäure — Oxalsäure — Harnstoff,

eine Anschauung, welche Neubauer[2]) bei direkter Prüfung nicht bestätigt fand. Bei der fortschreitenden Zersetzung des Harns wird die Oxalursäure nicht, wie Schunck glaubt, in Oxalsäure und Harnstoff zersetzt, sondern in kohlensaures Ammon umgewandelt.

D. *Erkennung.* Die Octaëder des oxalsauren Kalks sind so charakteristisch für denselben, dass sie mit keinem anderen Sediment

---

1) Feser u. Friedberger, Jahresber. f. Thierch. 1874. 231.

2) Schunck, Proceed. of the Royal Society **16**. 140. — Neubauer, Ztschr. f. analyt. Ch. 7. 230.

verwechselt werden können; bei gewissen anderen Formen der Krystalle wäre allerdings eine Verwechslung mit denen der phosphorsauren Ammon-Magnesia denkbar; aber diese löst sich leicht in Essigsäure, während der oxalsaure Kalk darin unlöslich ist. — Die sphäroiden Gestalten sind für den oxalsauren Kalk dagegen nicht charakteristisch, in ähnlicher Form scheidet sich auch der kohlensaure Kalk aus; aber dieser löst sich unter Gasentwicklung in Essigsäure, der oxalsaure Kalk nur in Mineralsäure (Salzsäure).

3. Cystin.

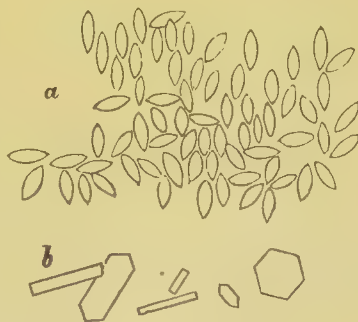
Das Cystin findet sich nur im Harn einzelner Individuen, aber dann mindestens jahrelang, vielleicht immer, während es im Harn vieler anderer durchaus fehlt. Es scheidet sich aus dem sauren Harn zumeist schon in der Blase in farblosen sechsseitigen Täfelchen ab (Taf. II, untere Hälfte der Fig. 1). Nicht selten werden mit cystinhaltigen Harnen, die Cystin als Sediment enthalten, auch grössere Concremente, von fast chemisch reinem Cystin, entleert. Die Steinchen sind weiss oder gelblich, besitzen deutlich krystallinisches Gefüge, wechseln von der Grösse eines Nadelknopfs bis zur Grösse einer Erbse und sind schon in ihrem Aeussern so charakteristisch, dass sie nicht leicht mit irgend einem anderen Harnconcrement verwechselt werden können.

Das Cystin ist kenntlich an seiner Krystallform und lässt sich von der Harnsäure am Besten durch seine Löslichkeit in Ammoniak unterscheiden (§ 30. II. B. 2. S. 272).

4. Xanthin.

Bence Jones[1]) fand im Harn eines 9½jährigen Knaben, der schon 3 Jahre vorher die Erscheinungen von Nierenstein-Kolik dargeboten hatte, wetzsteinähnliche mikroskopische Krystalle (Fig. 17. a.), die, wie die Abbildung zeigt, auf den ersten Blick für Harnsäure gehalten werden konnten, allein beim Erhitzen des trüben Harns löste sich das Sediment mit Leichtigkeit auf. Das auf einem Filter gesammelte und mit Weingeist gewaschene Sediment zeigte folgende Reactionen: In Wasser und Salzsäure waren die Krystalle löslich, in Salpetersäure erfolgte die Lösung unter Gasentwicklung und die salpetersaure Lösung hinterliess beim Abdampfen einen gelben Fleck (S. 341). Die salzsaure Lösung schied beim Verdunsten Krystalle von der Form b aus, die in Wasser löslich waren. Auch in Alkalien löste sich das Sediment leicht, die wässrige Lösung des Sediments reagirte schwach alkalisch und hinterliess einen amorphen, wieder in Wasser löslichen Rückstand. Der Harn hatte immer eine ziemlich hohe Dichte und enthielt zuweilen Spuren von Albumin, allein das Sediment, nach Bence Jones aus Xanthin bestehend, zeigte sich später nicht mehr.

Fig. 17.



[1]) Bence Jones, Journ. of the chem. Soc. **15**. 78. 1862; [2] **6**. 211. 1868; Chem. Centralbl. 1868. 847.

Ein ähnliches Sediment hat Maclagan neben einem Phosphatsediment wahrgenommen. Es bildete breite braungelbe durchsichtige, trocken wachsglänzende Blätter mit scharfen Winkeln, roch beim Erhitzen nach verbranntem Horn, löste sich nicht in kaltem Wasser, in Alkohol und in Aether, dagegen in Salzsäure mit blassgelber Farbe. Salpetersäure löste es unter Gasentwicklung, die Lösung hinterliess einen glänzenden gelben amorphen Rückstand, der mit Ammoniak citronengelb wurde, mit Kali schmutzig braun. — Ein Sediment von Xanthin sah Weiske[1]) im Harn eines leukämischen Schafbocks.

5. Tyrosin.

Frerichs und Städeler, sowie Schultzen und Riess fanden die garbenförmigen Nadeldrusen des Tyrosins im Harn bei acuter gelber Leberatrophie, Mies[2]) im stark sedimentirenden Harn eines 10jährigen Mädchens (Tafel I, rechte untere Ecke der Fig. 5). Man prüft nach § 30. IV. C. S. 284.

6. Hippursäure.

Die Hippursäure ist sehr selten als Sediment im Harn angetroffen worden, so von Golding Bird, da Silva Amado[3]); sie tritt dann in den in der rechten oberen Hälfte der Fig. 3, Tafel I abgebildeten Prismen auf. Gewisse spiessige Formen, in welchen sich die Harnsäure manchmal aus dem Harn absetzt (§ 33. B. 1. S. 314) könnten leicht Anlass zu einer Verwechslung mit der Hippursäure geben, wenn man sich auf die mikroskopische Untersuchung allein beschränkt. Von der Harnsäure unterscheidet sich die Hippursäure schon durch ihre grössere Löslichkeit in Wasser, ihre Löslichkeit in Alkohol und Aether und die übrigen § 21. D. S. 227 angegebenen Reactionen. Die Murexidprobe giebt die Hippursäure nicht.

7. Indigblau und Indigroth.

Wenn der normale Harn in die alkalische Gährung übergeht, so zersetzt sich die Indoxylglykuronsäure (S. 203) unter Bildung von Indigo, welcher sich bei Zutritt von Luft in sternförmig angeordneten, gewundenen dunkelblauen Nadeln, seltener in blauen Plättchen an der Oberfläche des Harns ebenso häufig wie auf dem Boden des Gefässes abscheidet, wie von Heller, Bence Jones, Virchow, v. Jaksch u. A., neuerdings von Wolff bei Perforationsperitonitis, von Rosin bei Pyelonephritis beobachtet wurde. Das Indigotin ist schon an seiner eigenthümlichen Form und an seiner Farbe kenntlich, seine weiteren Eigenschaften (S. 556) gestatten einen sichern Nachweis desselben auch mit kleinen Mengen. — Eine gute Abbildung von Indigokrystallen aus Harn giebt v. Jaksch[4]).

Neben dem Indigo können violettrothe Nadelbüschel oder rhombische Plättchen oder amorphe Massen vorkommen: Indigroth (Urorubin) S. 592.

8. Bilirubin, Hämatoidin.

Bilirubinkrystalle hat bei acuter gelber Leberatrophie Scherer undeutlich krystallinisch, Rosenheim bei einem Kinde krystallinisch gefunden, Kussmaul in icterischem Harn in Schleimkörperchen eingeschlossen, Hofmann und Ultzmann in nekrotischen Fetzen von Zottenkrebs der Blase, Ebstein bei Pyonephrose

[1]) Douglas Maclagan, Monthly Journ. of med. sc. August 1851. 121. Canstatt's Jahresber. 1851. pathol. Ch. 49. — H. Weiske, Ztschr. f. Biol. **11**. 254. 1875.

[2]) Frerichs u. Städeler, Archiv f. Anat. u. Physiol. 1856. 47. — Schultzen u. Riess, Ann. d. Charité-Krankenhauses **15**. — Mies, Münchener med. Wochenschr. 34. 1894; Jahresb. f. Thierch. 1894. 626.

[3]) J. J. da Silva Amado, Gaz. de Paris 28. 29. 1868.

[4]) H. Wolff, Centralbl. f. d. med. Wissensch. 8. 1888. — H. Rosin, Virchow's Archiv **123**. 538. 1891. — v. Jaksch, Klinische Diagnostik, 4. Aufl. 1896. 338.

in gleichzeitig ausgeschiedenem Fett, Wood neben Cystin, Kalkoxalat, Blut und anderen geformten Bestandtheilen im Harn einer Frau, Leyden bei Nephritis gravidarum, v. Recklinghausen und F. Hoppe-Seyler im Harn eines Knaben nach Lammbluttransfusion, Hofmeier sehr häufig amorph in Nierenepithelien des Harns icterischer Neugeborner, Fritz[1]) je einmal bei Granularatrophie der Niere und bei Lungentuberkulose mit Amyloidentartung der Nieren, in 3 Fällen von Scharlach, in 2 Fällen von Typhus abdominalis und in 2 Fällen von Lebercarcinom mit Icterus.

Das Bilirubin krystallisirt in gelben oder bräunlichen, mikroskopischen rhombischen Täfelchen oder Nadeln, oder scheidet sich amorph aus, löst sich leicht in Alkalien und in Chloroform, nicht in Aether und giebt mit Salpetersäure auch unter dem Mikroskop die Gmelin'sche Gallenfarbstoffreaction (grüne Färbung), während das Hämatoidin, mit welchem es nach Gestalt und Farbe leicht verwechselt werden kann, nach Holm[2]) in reinem Zustand dunkelrothe, in unreinem Zustand cantharidengrüne rhombische Täfelchen bildet, sich wohl in Chloroform, aber nicht in Aether und in Alkalien löst und sich mit Salpetersäure (vorübergehend) blau färbt.

9. Heteroalbumose.

Nur ein einziges Mal ist krystallisirte Heteroalbumose, von Byron-Bramwell und Noel-Paton, als Sediment beobachtet worden. Amorph sahen sie Kühne sowie Matthes auftreten (S. 484).

10. Phosphatsedimente.

A. Von den Phosphatsedimenten lassen sich unterscheiden: a. die amorphen (einfach sauren oder) normalen Phosphate der alkalischen Erden, b. die phosphorsaure Ammon-Magnesia, c. das normale Magnesiaphosphat und d. der einfach saure phosphorsaure Kalk.

a. Jeder alkalisch gewordene oder mit alkalischer Reaction entleerte normale oder pathologische Harn ist trüb von den einfach sauren oder normalen Phosphaten der alkalischen Erden (S. 26 u. 27); dieselben sind amorph. Man kann solche Sedimente leicht erzeugen, wenn man normalen sauren Harn mit Natriumhydrat oder kohlensaurem Natron alkalisch macht.

b. Rührt die alkalische Reaction von Ammoniak her (Harnfäulniss), so sind dem amorphen Sediment noch Krystalle von phosphorsaurer Ammon-Magnesia (Tripelphosphat, S. 28) in schönen grossen prismatischen Krystallen des rhombischen Systems (Sargdeckel) beigemengt. Weiske[3]) fand bis 9 mm grosse Krystalle. Taf. II. Fig. 3 stellt ein solches Sediment mit vorwaltenden Tripelphosphatkrystallen (und harnsaurem Ammon) dar. Schwach saurer (amphoterer) normaler Harn scheidet, wenn er einigermaassen concentrirt ist und Ammonsalze in genügender Menge enthält, ein nur aus Tripelphosphat bestehendes Sediment ab; Harn, welchen Hunde oder Katzen bei reiner Fleischfütterung entleeren, thut dies häufig.

---

[1]) Scherer, Verhandl. d. physik.-med. Gesellsch. zu Würzburg 8. 281. 1858. — Th. Rosenheim, Ztschr. f. klin. Med. 15. 441. 1888. — Kussmaul, Würzburger med. Ztschr. 4. 63. 1863. — W. Ebstein, Archiv f. klin. Med. 23. 115. 1879. — E. S. Wood, Boston med. and surg. Journal, July 3, 1879; Virchow-Hirsch's Jahresber. 1879. 1. 223. — Leyden, Ztschr. f. klin. Med. 183. 1881. — v. Recklinghausen und F. Hoppe-Seyler, bei H.-S. Physiol. Ch. 1881. 863. — M. Hofmeier, Die Gelbsucht der Neugebornen. Stuttgart 1882. 56. — Fritz, Ztschr. f. klin. Med. 2. 470.

[2]) F. Holm, Journ. f. prakt. Ch. 100. 142. 1867.

[3]) H. Weiske, Berichte d. chem. Gesellsch. 16. 63. 1883.

c. In sehr seltenen Fällen hat man in alkalischem Harn bei Magenerweiterung und starkem Erbrechen saurer Massen (Stein) oder nach dem Gebrauch von kohlensaurer Magnesia mit schwefelsaurem Natron (Venables[1]), ferner in alkalischem Pferdeharn, grosse sehr platte, stark lichtbrechende längliche rhombische Tafeln mit Winkeln von 60^0 und 120^0 auftreten sehen; diese Krystalle bestanden aus normaler phosphorsaurer Magnesia, $Mg_3(PO_4)_2 + 22\,H_2O$ (S. 27).

d. Das einfachsaure Kalkphosphat $CaHPO_4 + 2\,H_2O$ (S. 26) krystallisirt aus gewöhnlich nur schwach saurem (wohl richtiger amphoteren) Harn zwar selten, aber doch häufiger als (aus saurem Harn) das Tripelphosphat und bildet dann entweder einzelne, oder sich kreuzende oder zu ganzen Drusen angeordnete Krystalle, wie sie die untere Hälfte der Fig. 1, Taf. I nach besonders grossen und schön ausgebildeten Formen veranschaulicht. Meist sind die Krystalle aber so klein, und die Drusen so dicht, dass man auch mit stärkeren Vergrösserungen kein klares Bild von den Bestandtheilen der Drusen gewinnt. Dieses Sediment erscheint im Harn, wenn er reich ist an Kalksalzen und zugleich schwach sauer, so bald nach einer reichlichen Mahlzeit oder nach dem Genuss von essigsaurem Kalk u. s. w. Auch unter pathologischen Verhältnissen ist das Sediment beobachtet worden (Hill Hassall, Roberts, Bence Jones[2]).

B. *Nachweis.* Sämmtliche vier Sedimente lösen sich leicht in Essigsäure, und unterscheiden sich hierdurch von allen anderen, mit denen sie der Form nach etwa verwechselt werden können. Die krystallisirten Phosphatsedimente verhalten sich nach Stein aber gegen eine Lösung von kohlensaurem Ammon (1 Theil käufliches Salz in 5 Theilen Wasser) verschieden. Das Tripelphosphat bleibt in der Flüssigkeit unverändert und erscheint nach tagelanger Einwirkung nur etwas matter. Die Krystalle des Magnesiaphosphats werden in dem Reagens sogleich matt und nehmen einen bräunlich grauen Ton an, nach einigen Minuten erscheinen ihre Ränder angenagt und die ganze Oberfläche chagrinlederartig rauh; nach 48 Stunden sind die Gruben auf ihren Flächen noch tiefer und neben den Krystallen findet man zahlreiche kleine Krystalle von Tripelphosphat. Nach 5—10 Minuten langem Verweilen des einfach sauren Kalkphosphats in der Flüssigkeit bemerkt man auf, an und neben den Krystallen zahlreiche sehr kleine, zum Theil aneinander haftende Kügelchen, die nach einigen Stunden eckig werden und sich in ein Haufwerk kleiner Krystalle von kohlensaurem Kalk verwandeln.

11. Schwefelsaurer Kalk.

Gyps, $CaSO_4, 2\,H_2O$, ist sehr selten als Sediment in stark saurem Harn beobachtet worden (Valentiner, Fürbringer). Er tritt in langen dünnen farblosen Nadeln oder schmalen gestreckten, an den Enden meist schief abgeschnittenen Tafeln auf, die selten vereinzelt vorhanden sind, sondern meist Drusen bilden. Das in Fig. 18 abgebildete Sediment beobachteten Feser und Friedberger[3])

---

1) C. Stein, Archiv f. klin. Med. 18. 207; Ann. d. Ch. 187. 79. 1877. — Rob. Venables, Med. Times and Gaz. May 1848.

2) A. Hill Hassal, Lancet II. 21, Nov. 1859. — W. Roberts, Brit. med. Journal. March. 30, 1861. — H. Bence Jones. Journ. of the chem. Soc. 15. 8. 1862.

3) Valentiner, Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1863. 913. — P. Fürbringer, Arch. f. klin. Med. 20. 521. — Feser u. Friedberger, Jahresber. f. Thierch. 1874. 228.

im Harn eines kranken, mit Sulphaten behandelten Pferdes. Im Harn gesunder Pferde wurde nach Verabreichung von Sulphaten das Sediment nicht beobachtet; der filtrirte Harn trübte sich beim Kochen durch Entweichen von Kohlensäure unter Abscheidung von Erdalkalicarbonat; als dieses durch Essigsäure gelöst wurde, krystallisirte dann Gyps in den wohl ausgebildeten Krystallen der Fig. 19 aus.

Fig. 18.

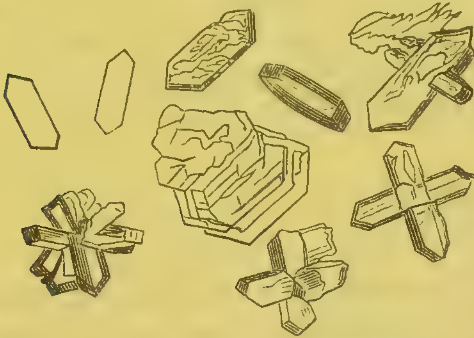
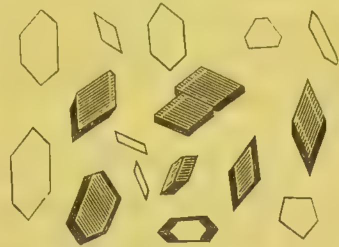


Fig. 19.



Der Gyps ist unlöslich in Ammoniak, in Alkohol und in Essigsäure, schwer löslich in Salzsäure, in Salpetersäure und in Wasser; in heissem Wasser löst sich der Gyps nicht leichter, aber schneller als in kaltem Wasser. Die wässrige Lösung giebt mit Chlorbaryum einen in Salzsäure oder Salpetersäure unlöslichen Niederschlag (Schwefelsäure), und mit oxalsaurem Ammon einen in Essigsäure unlöslichen, in Salzsäure oder Salpetersäure löslichen Niederschlag (Kalk).

12. Kohlensaurer Kalk.

Kohlensaurer Kalk kann dem amorphen Phosphatsediment alkalischen Harns beigemengt sein; aus normalem Harn der Pflanzenfresser scheidet sich oft kohlensaurer Kalk (und kohlensaure Magnesia) als Sediment ab, wenn die Kohlensäure des Harns, welche den kohlensauren Kalk (als doppeltkohlensauren) gelöst enthalten hat, aus dem Harn entweder in der Blase resorbirt wird oder nach der Entleerung entweicht; wahrscheinlich ist aber auch eine Bildung des Kalkcarbonats aus carbaminsaurem Kalk (S. 268). Vollkommene Krystalle würden die rhomboëdrischen Formen des Kalkspaths aufweisen. Der kohlensaure Kalk erscheint jedoch in der Regel als sandiges Pulver von hantelförmigen Aggregaten (Dumb-bells, Taf. I, Fig. 1, obere Hälfte), die mit den ähnlichen Gestalten des oxalsauren Kalks verwechselt werden könnten, oder in grossen concentrisch gestreiften Kugeln; aber der kohlensaure Kalk löst sich in Essigsäure (unter Gasentwicklung), während der oxalsaure Kalk in Essigsäure unlöslich ist. Nach dem Lösen solcher Kugeln aus Pferdeharn in Essigsäure habe ich einmal schöne, in eine häutig-körnige Masse eingebettete Kalkoxalatkrystalle zurückbleiben sehen.

§ 49. Unterscheidung der nicht organisirten Sedimente.

Für die Erkennung eines Sediments liefert die mikroskopische Untersuchung werthvolle Anhaltspunkte. Man lässt den Harn in einem engen hohen Glase stehen und verwendet das so gewonnene Sediment für die Untersuchung, oder man hebt, wenn es nur spärlich vorhanden und auf einer breiten Bodenfläche in dünner Schicht abgelagert ist, den klaren Harn ab, giesst den Rest Harn mit dem Sediment in ein Reagensglas oder in ein spitzes Champagnerglas und lässt das Sediment sich wieder

absetzen. Um eine Probe für die Untersuchung zu nehmen, taucht man eine Pipette (ein spitz ausgezogenes Glasrohr), die man mit dem Finger verschlossen hält, bis auf den Boden des Glases, hebt den Finger ab, schliesst die Pipette, wenn sie sich gefüllt, wieder mit dem Finger und führt sie aus der Flüssigkeit heraus. Hält man sie vertical, so sinkt das aufgewirbelte Sediment bald wieder in die Spitze und die Flüssigkeit, welche die Pipette aussen benetzt, tropft ab. Man lässt darauf aus der Pipette einen Tropfen auf den Objectträger ausfliessen, bedeckt ihn mit dem Deckglas und durchmustert das Präparat unter dem Mikroskop.

A. Der Harn reagirt sauer.

a. Das Sediment ist amorph.

1. Es besteht aus kleinen, lose zusammenhängenden Körnchen; daneben können sich Krystalle von Harnsäure und von oxalsaurem Kalk vorfinden: Uratsediment. Das Sediment löst sich beim Erwärmen; auf Zusatz eines Tropfens starker Essigsäure an den Rand des Präparats verschwinden die Körnchen und nach längerer Zeit (bis einige Stunden) scheidet die Lösung kleine rhombische Täfelchen (von Harnsäure) ab.

2. Es besteht aus hantelförmigen Körpern (Dumb-bells).

α. Starke Essigsäure lässt sie unverändert, concentrirte Salzsäure löst sie ohne nachträgliche Abscheidung von Krystallen: oxalsaurer Kalk;

β. Sie lösen sich nicht in concentrirter Salzsäure: wahrscheinlich schwefelsaurer Kalk; das Sediment wird abfiltrirt, ausgewaschen, in viel heissem Wasser gelöst und nach § 48. 11 geprüft.

3. Stark lichtbrechende, im auffallenden Licht silberglänzende, kreisrunde Tröpfchen, die sich in Aether lösen: Fett.

4. Amorphe gelbe körnige Massen: Bilirubin oder Hämatoidin (b. 2.).

b. Das Sediment ist krystallinisch.

1. Gelbe bis braune wetzsteinförmige Krystalle, einzeln oder in den § 33. B. 1. beschriebenen Anordnungen, allein oder neben amorphem Uratsediment und oxalsaurem Kalk: Harnsäure; die Krystalle lösen sich in Natronlauge; nach Zusatz von concentrirter Salzsäure zu der Lösung scheiden sich (bräunlich gelbe) rhombische Täfelchen aus.

2. Gelbe kleine rhombische Täfelchen allein oder neben amorphen körnigen Massen von gleicher Farbe, oft in Gewebselementen eingebettet; Bilirubin oder Hämatoidin. Erkennung und Unterscheidung § 48. 8.

3. Farblose (in icterischem Harn auch gelbe) durchsichtige, stark lichtbrechende Oktaëder, mit deutlichen Oktaëderkanten (Briefcouverts), oder quadratische, kürzere oder längere Prismen mit aufgesetzten Oktaëdern, unlöslich in Essigsäure, löslich in Salzsäure: oxalsaurer Kalk.

4. Diesen ähnliche Krystalle oder grosse sargdeckelförmige Krystalle (in sehr schwach saurem Harn), löslich in Essigsäure: phosphorsaure Ammon-Magnesia (Tripelphosphat).

5. Regelmässige sechsseitige Täfelchen, mit gleichen Seiten und Winkeln, unlöslich in Essigsäure, löslich in Ammoniak: Cystin. Prüfung nach § 30. II. C. S. 277.

6. Farblose, wetzsteinförmige Krystalle, unlöslich in Essigsäure, löslich in Ammoniak, die Lösung in Salzsäure scheidet gestreckte sechsseitige Täfelchen ab: Xanthin. Prüfung nach § 34. B. II. 13; S. 341.

7. Grosse, sehr platte, stark lichtbrechende, längliche rhombische Täfelchen, löslich in Essigsäure, von kohlensaurem Ammon angenagt werdend: normale phosphorsaure Magnesia (§ 48. 10. A. c.).

8. Einzeln oder in Drusen angeordnete Prismen.

α. löslich in Ammoniak: Hippursäure.

β. unlöslich in Ammoniak und in Säuren: Gyps.

9. Keilförmig zugespitzte einzelne oder in dicken Drusen bei einander liegende Prismen; in kohlensaurem Ammon zerfallend, löslich in Essigsäure: einfachsaurer phosphorsaurer Kalk (§ 48. 10. A. d.).

10. Büschel sehr feiner Nadeln, unlöslich in Essigsäure, löslich in Ammoniak und in Salzsäure: Tyrosin; man prüft nach § 30. IV. C. S. 283.

B. Der Harn reagirt alkalisch.

Wird der Harn erst nach der Entleerung alkalisch, so kann derselbe noch Bestandtheile der Sedimente saurer Harne enthalten, so Harnsäure, oxalsauren Kalk, Gyps etc. Wird der Harn mit alkalischer Reaction entleert, oder setzt er erst, während er alkalisch wird, ein Sediment ab, so sind folgende Bestandtheile möglich:

a. das Sediment ist amorph.

1. Es bildet kleine Körnchen (neben Tripelphosphat).

α. Dieselben lösen sich in Essigsäure ohne Gasentwickelung: normale phosphorsaure alkalische Erden (Erdphosphate).

β. Sie lösen sich, indem sich an den Körnchen Gasblasen ansetzen: kohlensaure alkalische Erden (Kalk).

2. Hantelförmige Massen oder grosse Kugeln, unter Gasentwickelung in Essigsäure löslich: kohlensaurer Kalk.

3. Grosse dunkle Kugeln, die einander angereiht und mit kleinen Kryställchen besetzt sein können: harnsaures Ammon; sie lösen sich in Salzsäure oder Essigsäure mit nachfolgender Abscheidung rhombischer Täfelchen von Harnsäure.

b. Das Sediment ist krystallinisch.

1. Grosse farblose Prismen mit gebrochenen Kanten (Sargdeckel): Tripelphosphat; sie lösen sich leicht in Essigsäure.

2. Drusen blauer haarfeiner gewundener Nadeln oder blaue Täfelchen: Indigo. Es können Kohlensplitter mit den Täfelchen verwechselt werden. Prüfung nach S. 166.

3. Drusen violettrother Nadeln oder rhombische Plättchen: Indigroth (S. 596).

§ 50. Organisirte Sedimente.

Zur Untersuchung bringt man die organisirten Bestandtheile, indem man sie, wie die nicht organisirten (§ 49) in einem Spitzglas sedimentiren lässt oder mittelst einer Hand-Centrifuge ausschleudert.

Färbemethoden bei v. Jaksch, Klinische Diagnostik. Zur Conservirung der organisirten Sedimente geben Bohland sowie Pollacci[1]) Anleitung.

1. Epithelien und Schleim, Eiter.

Normaler saurer Harn ist nach der Entleerung niemals vollkommen klar. Die trübende Substanz sammelt sich beim ruhigen Stehen des Harns bald gegen die Mitte der Flüssigkeit als trübende Wolke an (nubecula der alten Aerzte) und senkt sich allmählich zu Boden. Auch normaler alkalischer Harn enthält dieselben geformten Elemente, nur sind sie wegen der häufig gleichzeitig vorhandenen, durch Erdphosphate bedingten Trübung des Harns nicht für sich wahrnehmbar.

In einem solchen Sedimente eines normalen Harns findet man unter dem Mikroskop neben den deutlich kernhaltigen, verschieden geformten Epithelialzellen der Harnwege etc. vereinzelte Schleimkörperchen als runde, stark granulirte ein- oder mehrkernige Zellen, die manchmal, aber selten, amoeboide Ausläufer getrieben haben. Sie sind grösser als die farbigen Blutkörperchen. Die Epithelien finden sich in verschiedenen Formen (Taf. II, Fig. 6).

a. Die grossen unregelmässig polygonalen, plattenförmigen Zellen mit deutlichem häufig central gelegenen Kern rühren aus dem Präputium, der Harnröhrenmündung oder aus der Vagina her. — b. Die cylindrischen langen, in eine stumpfe Spitze verlängerten, gleichfalls kernhaltigen Zellen von geringerer Grösse als die Plattenepithelien stammen aus der männlichen Harnröhre. — c. Noch kleinere polygonale oder elliptische, meist mit einem grossen Kern ausgestattete, stark

---

[1]) K. Bohland, Centralbl. f. innere Med. **21**. 20. 1894. — G. Pollacci, Riforma med. **10**. 842; Ztschr. f. anal. Ch. **35**. 642. 1896.

granulirte Zellen entstammen den obersten Schichten der Schleimhaut der Harnblase, der Ureteren und des Nierenbeckens. Mehr ovale, häufig unregelmässig konische, mit einem oder zwei dünnen Ausläufern versehene, grosskernige Zellen mit deutlich kernigem Protoplasma gehören den mittleren und tieferen Schichten der Schleimhaut vom Nierenbecken bis zur Harnblase an. Sie finden sich einzeln oder über und neben einander gelagert. — d. Kleinste, rundliche oder schwach eckige Zellen mit grossem direkt sichtbaren Kern und feinkörnigem, zuweilen auch verfetteten Protoplasma sind solche aus den Nierenkanälchen; sie treten einzeln auf oder in Gruppen (Harncylindern). Ist Nierenepithel zugegen, so enthält der Harn meistens gleichzeitig Eiweiss.

Bei Gegenwart von Eiter oder bei katarrhalischer Affection der Harnwege sind Eiterkörperchen in grosser Zahl vorhanden, daneben nicht selten farbige Blutkörperchen. (Taf. II, Fig. 6, rechts unten). Bei starkem Gehalt an Eiter kann das Sediment eine ziemlich hohe Schicht bilden. Im Filtrat solchen Harns ist stets Eiweiss nachweisbar. Wird solcher Harn alkalisch, so quellen die Eiter- und Schleimkörperchen zu einer formlosen, zähen, dem Boden des Gefässes stark anhaftenden Masse auf.

2. Blutkörperchen.

Blutkörperchen finden sich bei Blutungen in die Harnwege. Sie erscheinen unter dem Mikroskop als gelbe kreisrunde Scheiben mit centraler Depression; von der Seite gesehen zeigen sie Biscuitform. Im Harn ist ihre Gestalt den verändernden Einwirkungen der Harnflüssigkeit ausgesetzt; sie sind entweder aufgequollen und verzerrt, oder geschrumpft und zackig. Die rechte untere Ecke der Fig. 6 auf Taf. II zeigt die farbigen Blutkörperchen in ihren verschiedenen Formen neben den (grösseren) farblosen. Weitere Aufschlüsse geben die Blutproben § 43. VIII. C; S. 496.

3. Harncylinder.

Die Harncylinder sind schlauchförmige Abgüsse der Harnkanälchen. Man unterscheidet a. aus deutlichen Zellen bestehende, b. granulirte und wachsartige, c. hyaline und Cylindroide.

a. Die zelligen Cylinder können bestehen aus Nierenepithelien, rothen und farblosen Blutkörperchen. Der unterste Cylinder auf Fig. 5, Taf. II ist aus weissen Blutkörperchen, der oberste zum Theil aus entfärbten rothen Blutkörperchen („Blutschatten") zusammengesetzt.

b. Die granulirten Cylinder kommen, wie die Wachscylinder, in verschiedenen Grössen vor, sind fein- und grobkörnig granulirt, gelblich weiss (Fig. 5 links oben) und zeigen häufig Auflagerungen von Epithelien (Fig. 5 links unten), weissen Blutkörperchen (in der Mitte der Fig. 5), Fetttröpfchen und sog. Fettnadeln (rechts unten) u. dergl. Zu ihnen zählt man auch die braunrothen aus geronnenem Blutfarbstoff bestehenden, wie sie z. B. bei Hämoglobinurie ausgeschieden werden. — Die Wachscylinder unterscheiden sich von den granulirten durch ihre homogene Beschaffenheit und ihren matten Glanz. Auch sie tragen Auflagerungen der verschiedensten Art: Zellen, Krystalle, Pilze u. s. w. Beide Arten sind aus umgewandeltem Nierenepithel hervorgegangen.

c. Die hyalinen sind ausserordentlich zart umrissen und brechen das Licht nur wenig stärker als der Harn, so dass sie sich nur schwer auffinden lassen; man kann sich zum Aufsuchen derselben färbender Zusätze bedienen (Jod, Anilinfarben); Jodjodkalium färbt sie gelb, Anilinviolett blau. Auch an ihnen haften fremde Formbestandtheile; Fig. 5 rechts oben ist ein solcher Cylinder mit Nierenepithel abgebildet. — Die Cylindroide sind sehr lang und schmal, gallertartig, bandartig gewunden, zusammengeknäult u. s. w., und gleichfalls sehr blass.

Man findet in trübem Harn unter dem Mikroskop manchmal körnige Massen (Urate u. s. w.) zu cylinderähnlichen lockeren Formen angeordnet; die Körnchen scheinen sich erst auf dem Objektträger so zu lagern, wenigstens kann man auch bei andern, nicht dem Harn entstammenden, leichten und lockeren Niederschlägen ähnliche Bildungen beobachten.

Die Abbildungen der Cylinder sind mit Erlaubniss des Verfassers v. Jaksch's Klinischer Diagnostik entlehnt.

4. Gewebstrümmer.

Als Bruchstücke pathologischer Gewebe oder Produkte pathologischer Processe in den Harnwegen finden sich im Harn Stücke von Carcinomen, namentlich des Zottenkrebses: das elastische Fasern und Spindelzellen führende, mit Epithelien belegte Gerüst desselben; es schliesst manchmal Reste von Blutkörperchen, sowie auch Hämatoidinkrystalle ein. Bei Tuberkulose der Harnwege können neben Blut auch nekrotische Fetzen von Bindegewebe, elastische Fasern und dergl. mit dem Harn entleert werden.

5. Spermatozoen.

Die Spermatozoen finden sich in derjenigen Portion Harn, welche nach einem Samenerguss entleert wird. Sie bilden lange, in eine äusserst feine Spitze auslaufende Fäden mit einem am dicken Ende aufsitzenden Körper (dem Kopf), der sich durch eine Einschnürung deutlich vom übrigen Faden (dem Schwanze) absetzt. Der Kopf besitzt eine annähernd eiförmige Gestalt, und ist nicht drehrund, sondern etwas plattgedrückt; der Schwanz fügt sich an das dicke Ende des Kopfes an.

Die nach vorn gerichtete schlängelnde Bewegung der Spermatozoen kann man in günstigen Fällen nur in frisch entleertem Harn wahrnehmen. Die zur Ruhe gelangten Spermatozoen verändern bald ihre Gestalt, indem sich der Schwanz zu einer Oese einschlägt. Weiterhin löst sich der Kopf vom Schwanze ab und dann sind sie nur schwer zu erkennen (Tafel II, Fig. 6 oben).

Nach Clemens u. A. kommen bei Spermatorrhöe neben völlig entwickelten Spermatozoen auch die Elemente des unreifen Samens im Harn vor, wie sie sich im Hoden vorfinden: den Samenzellen noch gruppenweise anhaftende Spermatozoen und noch frühere Entwicklungsstadien.

6. Pilze und Infusorien.

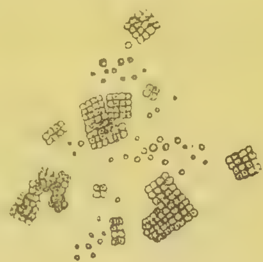
Bei der mikroskopischen Untersuchung eines Harns, welcher nur einige Zeit an der Luft gestanden hat, findet man oft eine Fülle der verschiedenartigsten, ruhenden und in Bewegung begriffenen Organismen. Die allermeisten sind erst nach der Entleerung des Harns in denselben gelangt, andere stammen aus den Harnwegen: aus dem Präputium oder

der Harnröhre oder auch aus der Blase, wohin sie von aussen gerathen sein können, in die Harnblase z. B. durch den Katheter; bei Frauen mischen sich dergleichen Organismen mit dem Vaginalsecret dem Harn bei. Nur für gewisse (pathogene) Spaltpilze liegt die Möglichkeit vor, dass sie aus dem Blut in den Harn gelangt seien; in Betreff dieser verweise ich auf die Darstellung von v. Jaksch[1]). Von den im Harn vorkommenden pflanzlichen Gebilden mögen erwähnt werden: a. der Micrococcus ureae, einer der Erreger der ammoniakalischen Harngährung (S. 223), ferner b. Spross- und Fadenpilze, welche auf und in saurem Harn wuchern, und c. die Harnsarcina.

a. Der Micrococcus ureae, ein Spaltpilz, tritt früher oder später in jedem Harn auf. Er bildet ausserordentlich kleine, aus zwei, seltener drei Gliedern bestehende kurze Stäbchen, deren einzelne Individuen aber nur mit den stärksten Vergrösserungen unterschieden werden können (Tafel II, Fig. 4 links oben); so stellt er sich dar in den ersten Tagen seiner Entwicklung. Nach einem Alter von nur einigen Tagen verwandelt er sich in Haufen sehr kleiner glänzender Körperchen, die, wie es scheint, in quadratisch geordneten Gruppen in eine schleimige, den Haufen zusammenhaltende Substanz eingebettet sind (Zoogloeahaufen Fig. 4 rechts oben). Aus diesen Körnchen entwickeln sich bei frischer Aussaat wieder die Stäbchen.

b. Von den Sprosspilzen entwickelt sich die gemeine Bierhefe leicht auf diabetischem Harn; hält man Harn durch einen schwachen Zusatz von Essigsäure sauer, so entwickeln sich vorzugsweise Pilze in der Form, wie sie in der unteren Hälfte der Fig. 4 abgebildet sind. Sie sind bei Weitem grösser als der Micrococcus ureae. — Rasen (Mycelien) von Fadenpilzen sind keine seltene Erscheinung auf Harn, welcher die alkalische Gährung durchlaufen hat.

Fig. 20.



c. Ein seltenes Vorkommniss und ein solches ganz eigner Art bildet die Harnsarcina. Sie erscheint in Aggregaten von Zellen, die zu 8, 64, 512 u. s. f. in regelmässig gestalteten weissen Würfeln bei einander liegen, und welche sich als solche deutlich erkennen lassen, sobald man sie unter dem Mikroskop in's Rollen bringt. Tafeln oder Platten bildet diese Sarcina nicht. Ihre einzelnen Elemente besitzen eine Grösse von 0,0008—0,0016 mm, die Harnsarcina ist also kleiner als die Magensarcina.

§ 51. Harnconcremente.

A. Die Bestandtheile der Harnconcremente sind, mit Ausnahme des Tyrosins, der Hippursäure und des Bilirubins dieselben, wie die der nicht organisirten Sedimente, und ihrer Bildung liegen dieselben chemischen Processe zu Grunde, wie der Bildung der Sedimente. Während aber in den Harnwegen entstandene Sedimente wenn auch nicht immer ohne Beschwerde, so doch noch leicht mit dem Harn entleert werden können, setzen die Concremente durch ihre Grösse der Entfernung auf dem natürlichen Wege bedeutendere oder unüberwindliche Hindernisse entgegen. Das Anwachsen der Formelemente des Sediments zu Concre-

1) v. Jaksch, Klinische Diagnostik, 4. Aufl. 1896. 321.

menten geht in derselben Weise vor sich, wie das Krystallwachsthum; ein Krystall oder eine Krystalldruse bildet den Krystallisationspunkt für die Ablagerung zunächst dem Krystall gleichartiger Substanz; solche Krystallmassen bilden den Harngries oder Harnsand, der noch entleert werden kann. Diese aber, sowie andere mehr oder minde feste Körper, wie Schleimpfröpfe, Blutgerinnsel, oder von aussen in die Blase gelangte Fremdkörper, liefern den Kern für weitere Ablagerungen von Bestandtheilen der Sedimente.

Nur in seltenen Fällen besteht ein Harnstein aus einer einzigen Substanz; am Häufigsten kommt dies noch vor bei den Kalkoxalat-, Cystin- und Xanthinsteinen. Gewöhnlich bestehen die Harnsteine aus mehrerlei Substanzen, die sich schichtenweise übereinander abgelagert haben; auf dem Kern, der aus einer Harnsäuredruse, aus einem Blutgerinnsel etc. bestehen kann, lagert sich z. B. eine schalenförmige Schicht von Phosphaten ab, auf diesen Harnsäure und Urate, darüber wieder Phosphate u. s. f.

B. Von den Harnsteinen lassen sich nach ihrer Zusammensetzung hauptsächlich folgende Arten unterscheiden, die aber zugleich in Form, Farbe und Härte Verschiedenheiten darbieten.

Die sehr seltenen Xanthinsteine besitzen meist eine zimmetbraune Farbe, sind mässig hart, nehmen beim Reiben Wachsglanz an und bestehen aus amorphen, sich leicht abblätternden Schichten.

Die ebenfalls seltenen Cystinsteine haben eine glatte oder scharfkantige Oberfläche, sind weiss oder mattgelb, auf dem Bruch krystallinisch und gleichfalls nicht sehr hart.

Von den aus oxalsaurem Kalk bestehenden Concrementen, Oxalatsteinen, sind die kleinen glatt und weiss, die grossen dagegen höckrig (Maulbeersteine) und selbst mit Zacken besetzt und oft von Blut oder Harnfarbstoff, das sich auf denselben niedergeschlagen hat, dunkelbraun. Sie sind ausserordentlich hart und auf dem Bruch krystallinisch.

Die Uratsteine, Gemenge von harnsauren Salzen und Harnsäure, in welchen die Harnsäure den überwiegenden Bestandtheil ausmacht, haben eine wenig rauhe Oberfläche, sind meist rothbraun gefärbt und so hart, dass die Schnittfläche politurfähig ist. — Concremente, welche blos aus harnsaurem Ammon bestehen, sind meist klein, hellgelb und weich.

Die Phosphatsteine bestehen meist aus Gemengen der normalen Phosphate der alkalischen Erden und Tripelphosphat: sie sind weiss und blättern sich leicht ab. Steine aus einfach saurem phosphorsaurem Kalk sind selten; sie besitzen ein schönes krystallinisches Gefüge, sind weiss oder auf dem Bruch farblos und hart. Die gleichfalls seltenen Concremente, die allein oder doch hauptsächlich aus kohlensaurem Kalk bestehen, besitzen zumeist eine kreideartige Beschaffenheit.

Die gemischten Harnsteine sind aus mehreren, meist schichtenweise übereinander abgelagerten Bestandtheilen zusammengesetzt, z. B. aus Harnsäure, oxalsaurem Kalk und Phosphaten, Cystin oder Xanthin und Phosphaten. Zu den seltneren Vorkommnissen gehört eine gleichzeitige Ablagerung von Indigblau und Indigroth.

Einige Male sind aus Cholesterin bestehende Concremente aus der Harnblase entfernt worden (§ 8. S. 170). Von den gleichfalls seltenen Urostealithen bestand ein von Horbaczewski analysirter grösstentheils aus Fett und festen Fettsäuren, von Heller, von Moore und von Vidau beschriebene (§ 10. b.

S. 180), aus einer fett- oder harzreichen Substanz, ein von Krukenberg[1]) untersuchter aus Paraffin. Die Bestandtheile der Urosteolithe sind wohl durch die Harnröhre in die Blase gebracht worden.

C. Analyse der Harnsteine. Für die Analyse wird der Stein entweder in Stücke zerschlagen oder in der Mitte durchsägt. Man erfährt so, ob er homogen ist, oder kann schon nach Farbe, Struktur und Härte verschiedene Bestandtheile unterscheiden, von denen man Stücke für die Analyse verwendet.

Eine Probe wird auf dem Platinblech geglüht. Urat- und Xanthinstein entwickelt unter starker Verkohlung den Geruch nach Blausäure; Cystin verbrennt mit bläulicher Flamme unter Entwicklung des Geruchs nach schwefliger Säure; Phosphatsteine hinterlassen eine reichliche Menge Asche, welche in starker Hitze weiss leuchtet. Man kann sich nun entweder von dem Ausfall der Vorprüfung leiten lassen und nur einen einzelnen Bestandtheil aufsuchen, oder man stellt eine Gesammtanalyse, diese dann in folgender Weise, an.

a. Ein Bruchstück des Steins wird zerrieben, das Pulver in einem Reagensglas mit Wasser übergossen und dann mit Salzsäure versetzt. Bei Gegenwart von kohlensauren Salzen nimmt man, manchmal erst bei schwachem Erwärmen, eine Gasentwicklung wahr.

b. Das Pulver wird dann mit einer grösseren Menge verdünnter Salzsäure erwärmt. Was dabei ungelöst bleibt, kann aus Harnsäure bestehen. Man filtrirt das Pulver ab und glüht einen Theil auf dem Platinblech; die Entwicklung des Geruchs nach Blausäure zeigt Harnsäure an; mit dem Rest des Pulvers nimmt man die Murexidprobe (S. 325) vor.

c. In der salzsauren Lösung können sich befinden Gyps, Xanthin, oxalsaurer Kalk, Cystin und die Phosphate.

α. Giebt Chlorbaryum mit der Lösung einen feinpulverigen Niederschlag, so enthält sie Schwefelsäure und somit wahrscheinlich Gyps (Nachweis des Kalks d.).

β. Um das Xanthin aufzusuchen, wird ein Theil der Lösung mit Ammoniak übersättigt und das Filtrat mit ammoniakalischer Silberlösung versetzt; ein dabei entstehender gelatinös flockiger Niederschlag kann Xanthin enthalten (S. 340). Man kann auch die ganze salzsaure Lösung zu dem Versuch verwenden, hat aber dann für die weitere Untersuchung einen etwa entstandenen Ammoniakniederschlag abzufiltriren und wieder in Salzsäure zu lösen.

γ. Die Lösung wird vorsichtig mit kohlensaurem Natron versetzt, bis ein geringer beim Umschütteln bleibender Niederschlag entsteht, dieser wieder in der gerade erforderlichen Menge Salzsäure gelöst und die Flüssigkeit mit überschüssiger (30 proc.) Lösung von essigsaurem Natron versetzt. Nach einigem Stehen setzen sich, wenn sie vorhanden sind, Cystin und oxalsaurer Kalk ab, möglicher Weise wenn die Lösung zu schwach sauer war, auch phosphorsaurer Kalk. Das Cystin kann dem Niederschlag durch Digestion mit Ammoniak entzogen werden; Essigsäure fällt dann das Cystin aus der ammoniakalischen Lösung krystallinisch (§ 30. II. C.). Der in Ammoniak unlösliche Antheil kann aus oxalsaurem Kalk bestehen; er darf sich nicht in Essigsäure lösen (Unterscheidung von Kalkphosphat), löst sich aber in Salzsäure; Uebersättigen seiner salzsauren Lösung mit essigsaurem Natron erzeugt wieder einen feinpulverigen Niederschlag von oxalsaurem Kalk. Wird der

---

1) Horbaczewski, Ztschr. f. physiol. Ch. **18**. 335. 1893. — Heller, dessen Archiv **2**. 1. 1845. — Moore, daselbst **6**. 423. 1853. — C. F. W. Krukenberg, Chem. Unters. z. wissensch. Med. **2**. 239; Jahresb. f. Thierch. 1889. 422.

Niederschlag geglüht und darauf mit Essigsäure übergossen, so entwickelt er jetzt Kohlensäure und in der entstandenen Lösung lässt sich mit oxalsaurem Ammon Kalk nachweisen.

d. Die mit dem Acetat ausgefällte Lösung enthält die Phosphate und sämmtliche Basen mit Ausnahme desjenigen Kalkes, welcher mit der vorhandenen Oxalsäure ausfiel. Man übersättigt einen Theil der Lösung mit Ammoniak oder kohlensaurem Natron; bleibt sie klar, so sind keine Phosphate vorhanden, trübt sie sich so können solche zugegen sein. Man untersucht nach α oder β.

α. Giebt ein Theil der Flüssigkeit mit oxalsaurem Ammon einen feinen weissen, in Salzsäure löslichen Niederschlag, so ist Kalk nachgewiesen. Man erwärmt dann den Rest der Flüssigkeit, setzt so viel oxalsaures Ammon zu, bis sich kein Niederschlag mehr bildet, lässt die Flüssigkeit einige Stunden an einem warmen Orte stehen und filtrirt. Man dampft das Filtrat in einer Schale auf ein kleines Volumen ein und versetzt es mit $^1/_3$ Volumen 10 proc. Ammoniak; entsteht dann ein krystallinischer Niederschlag (von phosphorsaurer Ammon-Magnesia), so sind Magnesia und Phosphorsäure zugleich nachgewiesen; bleibt der Niederschlag aus, so ist keine Magnesia vorhanden; um dann noch die Phosphorsäure aufzufinden, vermischt man einige Tropfen schwefelsaurer Magnesia mit Chlorammon und Ammoniak und setzt einige Tropfen dieser Lösung, welche ganz klar sein muss, der ammoniakalischen Flüssigkeit, in welcher man die Magnesia und die Phosphorsäure gesucht hat, hinzu. Entsteht jetzt ein krystallinischer Niederschlag, so war Phosphorsäure vorhanden.

β. Schneller führt folgendes Verfahren zum Ziele. Die nach der Abscheidung des Oxalats erhaltene Lösung wird, da sie in der Regel stark sauer ist, wieder mit kohlensaurem Natron abgestumpft wie c. γ., und dann mit wenig Eisenchlorid versetzt. Entsteht ein gelatinöser weisser oder gelblicher Niederschlag, so ist Phosphorsäure nachgewiesen. Man versetzt dann mit nur so viel Eisenchlorid, dass die Flüssigkeit schwach blutroth wird und filtrirt; das Filtrat wird abermals mit Eisenchlorid geprüft, ob es noch einen Niederschlag giebt und vollends ausgefällt. Das überschüssige Eisen fällt beim Kochen der Flüssigkeit als basisch essigsaures Salz in rostfarbenen Flocken vollständig aus. Trübt sich die vom Ferriacetat abfiltrirte Flüssigkeit mit oxalsaurem Ammon, so ist Kalk vorhanden; man fällt den Kalk in der Wärme wie bei d. α. mit Ammonoxalat aus, setzt reichlich Chlorammon, dann $^1/_3$ Vol. Ammoniak zu und versetzt die klare Flüssigkeit mit etwas phosphorsaurem Natron; ein entstehender grobkrystallinischer Niederschlag besteht aus phosphorsaurer Ammon-Magnesia. Man kann auch das nach dem Fällen des basischen Eisenacetats erhaltene Filtrat mit viel Chlorammon und etwas kohlensaurem Natron oder Ammon versetzen und die Flüssigkeit, gleichgiltig, ob sie einen Niederschlag gegeben hat oder nicht, anhaltend kochen; bei Gegenwart von Kalk setzt sich ein geringer sandiger Niederschlag ab und die Wand des Glases beschlägt sich mit einem zarten Anflug. Man fällt in derselben Weise mit Carbonat aus, filtrirt und prüft das Filtrat, wie nach dem Fällen des Kalks mit Oxalat, auf Magnesia. Werden die Filtrate bei diesen Operationen zu verdünnt, so thut man gut, sie vor weiterer Untersuchung durch Eindampfen zu concentriren.

e. Das Ammoniak findet man bei diesem Gang der Analyse nicht.

Man sucht es in dem nach b. gewonnenen salzsauren Auszug des Steines. Man macht die Lösung mit Natronlauge stark alkalisch und klemmt in die Mündung des Reagensglases mittelst eines Stopfens einen benetzten Streifen rothen Lackmuspapiers so ein, dass er die Wand des Glases nicht berührt. Bläut er sich, so ist Ammoniak vorhanden.

Zweite Abtheilung.

Quantitative Bestimmungen.

A. Allgemeine Methoden.

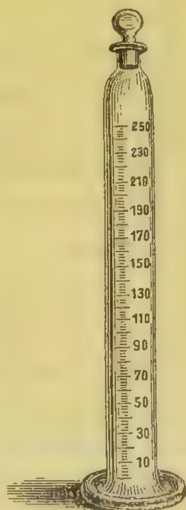
§ 52. Das Messen von Flüssigkeiten.

A. Die Maassgefässe.

Zum Abmessen von Flüssigkeiten verwendet man dreierlei Maassgefässe: a. Maasskolben und graduirte Cylinder, b. Pipetten, c. Buretten.

1. Der graduirte Cylinder und der Maasskolben dienen zum Abmessen grösserer Mengen Flüssigkeit, zum genauen Verdünnen von Lösungen u. s. w. Von den Maasscylindern (Fig. 21) sind solche zu 50, 100, 250, 500 und 1000 cc im Handel. Die grösseren haben eine Theilung von 10 zu 10 oder von 5 zu 5 cc, während bei den kleineren die Theilstriche noch kleinere Volumina umfassen. Sie gestatten also ein Abmessen von Bruchtheilen des ganzen Inhalts des Cylinders. Man unterscheidet davon zweierlei: solche, welche in trockenem Zustand ein bestimmtes Volumen fassen (Eingusscylinder) und solche, aus welchen beim Ausgiessen ein bestimmtes Volumen ausfliesst (Ausgusscylinder).

Fig. 21.



Will man den Stand der Flüssigkeit im Cylinder richtig ablesen, so muss man dafür Sorge tragen, dass der Cylinder eine lothrechte Stellung einnimmt. Das erreicht man nicht dadurch, dass man den Cylinder auf einen Tisch stellt, weil die Platte desselben nur ausnahmsweise horizontal ist und auch am Cylinder die Bodenfläche mit der Achse des Cylinders keinen rechten Winkel zu bilden braucht. Man umfasst vielmehr den Kropf des Cylinders mit Daumen und Zeigefinger, hebt den Cylinder auf und lässt den oberen Rand des Cylinders auf den Fingern schwebend ruhen; der Cylinder stellt sich dann vermöge seiner Schwere vertical. Die Flüssigkeitsoberfläche im

Cylinder bildet keine Ebene, sondern einen Meniscus, dessen Scheitel nach unten gekehrt ist; die Lage dieses bestimmt den Stand der Flüssigkeit im Cylinder; eine horizontale Ebene, welche durch den vertical gestellten Cylinder so hindurch gelegt ist, dass sie von der Krümmung des Meniscus tangirt wird, schneidet die Scala an derjenigen Stelle, an welcher man den Stand der Flüssigkeit abzulesen hat. Um diese richtige Ablesung zu bewerkstelligen, hebt man den auf den Fingern schwebenden Cylinder so hoch, dass der Flüssigkeitsspiegel die Höhe der Augen erreicht, und visirt nun diese gedachte Ebene entlang.

Fig. 22.



Fig. 23.

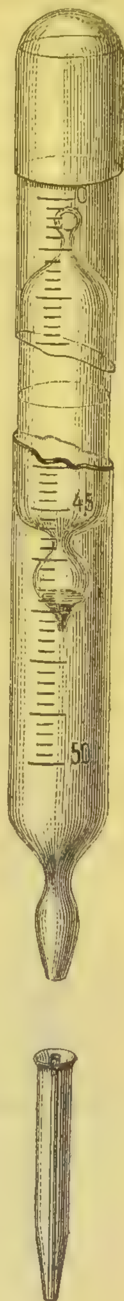


Die Maasskolben (Fig. 22) besitzen am Halse einen ringsum laufenden Strich als Marke und fassen ebenso grosse Volumina, wie die Cylinder, haben aber selbstverständlich keine Unterabtheilungen. Da der Hals derselben viel enger sein kann, als die Cylinder weit sind, der Strich an dem Kolben ausserdem aber um den ganzen Hals herumreicht, so kann man mit ihnen grosse Volumina genauer abmessen, als mit den Cylindern.

2. Die graduirte Pipette (Fig. 23) ist ein Glasrohr, welches an einer Stelle seines Körpers eine, am Besten cylindrische Ausweitung hat, entweder am unteren Ende oder in der Mitte. Bei der mit der Erweiterung in der Mitte kann nach Stas das Ende auf die Strecke von 3—4 cm auf 1 mm verengt sein. Sie fassen ein bestimmtes Volumen Flüssigkeit und tragen daher entweder nur eine Marke am Halse, wie die mit der Ausweitung am Ende und die mit der capillaren Ausflussöffnung, oder, wie die mit der Ausweitung in der Mitte des Körpers, auch zwei Marken, eine am Halse und die andere oberhalb der Ausflussöffnung; die Marke soll aus einem rings um den Hals laufenden feinen Strich bestehen.

Beim Gebrauch der Pipetten taucht man das untere Ende in die Flüssigkeit, saugt sie bis über die (obere) Marke am Halse voll und schliesst sie schnell durch Auflegen der Fingerspitze; das obere Ende der Pipette und der Finger müssen trocken sein. Man hebt hierauf die Pipette aus der Flüssigkeit, lässt die äusserlich anhaftende Flüssigkeit abtropfen, hält dann die Pipette senkrecht so vor das Auge, dass der vordere Strich der Marke den hinteren genau deckt und lässt durch vorsichtiges Lüften des verschliessenden Fingers so viel Flüssigkeit abtropfen, bis der Scheitel des Meniscus der Flüssigkeit gerade auf dem einfach gesehenen Strich der Marke aufsitzt. Alsdann schliesst man die Pipette wieder und lässt die Flüssigkeit aus der Pipette in das Gefäss auslaufen, in welchem man sie haben will. Je nachdem die Pipette zwei Marken oder nur eine trägt, lässt man die Flüssigkeit bis zur zweiten Marke sinken oder ganz ausfliessen. Im letzteren Falle bleibt ein Tropfen Flüssigkeit in der Pipette sitzen und man muss nun nach der Aichung der Pipette wissen, ob dieser Tropfen in der Pipette zurückbleiben darf (Ausflusspipetten) oder ausgeblasen werden muss. In jedem Falle streicht man die Spitze der Pipette, wenn sie entleert ist, an der Innenwand des Gefässes ab.

Fig. 24.



Bei der Pipette mit dem capillaren Ende, welche von Lobry de Bruyn[1]) wieder empfohlen wird, hört das Ausfliessen augenblicklich auf, so dass man über den Zeitpunkt der völligen Entleerung nicht in Zweifel ist. Es dauert länger als eine Minute, ehe ein Tropfen nachfliesst. Eine 25 cc fassende Pipette gab nur Fehler von 8—10 mg Wasser. Pipetten dieser Form übertreffen die andern an Genauigkeit.

Mittelst Pipetten hat man bei der Harnanalyse Volumina von 50, 30, 20, 15, 10, 5 und 1 cc abzumessen; man muss daher entweder alle diese, einige in mehrfacher Zahl, haben, oder man misst grössere Volumina Flüssigkeit mit zwei verschiedenen Pipetten ab, z. B. 50 cc mit der Pipette zu 30 und zu 20 cc, oder durch mehrmaliges Messen mit derselben Pipette, z. B. 20 cc mit der Pipette zu 10 cc.

3. Die Burette besteht aus einem weiten cylindrischen Glasrohr mit verjüngtem unteren Ende. Dieselben fassen je nach ihrer Weite 30—50 cc und sind ihrer ganzen Länge nach getheilt in ganze Cubikcentimeter, welche durch längere Striche markirt sind, wie auf dem Bruchstück Fig. 24, und die einzelnen Cubikcentimeter wieder entweder

---

[1]) C. A. Lobry de Bruyn, Chemikerztg. **21**. 669; Chem. Centralbl. 1897. **2**. 722.

in Fünftel oder Zehntel, die durch kürzere Striche bezeichnet sind, so dass man noch 0,1 cc abmessen kann. Die Cubikcentimeter werden von oben nach unten gezählt und sind numerirt, entweder durchgehends oder von 5 zu 5, u. dergl. Eine über die Burette gestülpte Glaskappe oder auf die Mündung gelegte Glaskugel schützt die Flüssigkeit in der Burette vor Verunreinigung, aber nicht genügend vor Verdunstung. Sie unterscheiden sich durch die Art, wie sie am unteren Ende verschlossen sind. Die gebräuchlichste Form ist die der Mohr'schen oder Quetschhahn-Burette. Bei dieser hat das untere Ende die in Fig. 24 abgebildete Gestalt. An dieselbe wird mittelst eines kurzen Kautschukschlauchs das kurze Glasrohr, welches in der Verlängerung der Burette abgebildet ist, angeschoben, und der Kautschukschlauch durch eine federnde Drahtklammer, den Quetschhahn, der in Fig. 25 in halbgeöffneter Stellung dargestellt ist, geschlossen.

Fig. 25.

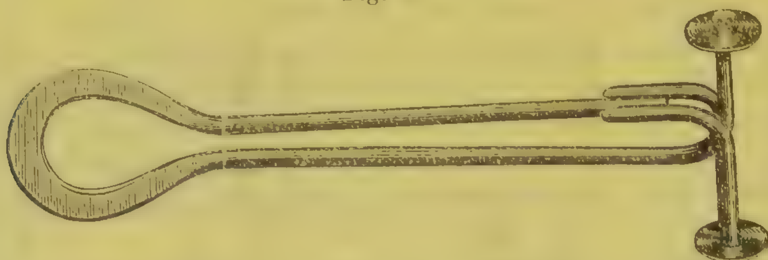


Fig. 26.

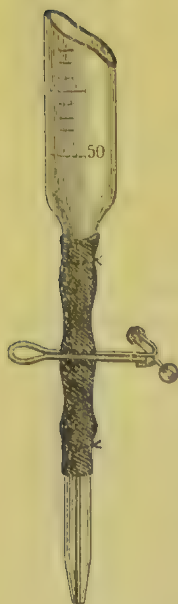


Fig. 26 zeigt diese Zusammenstellung.

Das kurze Ausflussröhrchen hat ein ziemlich enges Lumen und ist am oberen Rande etwas ausgebogen; bei dieser Construction füllt sich das Röhrchen leicht vollständig mit Flüssigkeit und wird das Stocken von Luftblasen im Kautschukschlauch verhindert.

Der Quetschhahn soll verhältnissmässig lang (8—10 cm) und aus starkem Messingdraht gefertigt sein; die Rundung an dem einen Ende ist flach gehämmert, damit der Quetschhahn gut federt. In geschlossenem Zustande des Hahns liegen die beiden Längsstäbe der ganzen Länge nach genau aufeinander, so dass kein Zwischenraum zwischen ihnen bleibt. Der Hahn öffnet sich, wenn man die beiden Knöpfe gegeneinander drückt. Der Kautschukschlauch darf nicht zu weit sein und keine zu starren Wände besitzen, damit er durch den Druck des Quetschhahns vollständig geschlossen werden kann; schwarzer aber nicht zusammen klebender Kautschuk eignet sich besser als vulkanisirter. Der Quetschhahn wird fast bis an die Ausbiegung über den Kautschukschlauch gezogen, weil er an dieser Stelle dem Gegendruck des Kautschuks am Wenigsten nachgiebt. Eine vollkommen geschlossene Burette darf nicht tropfen.

Es ist überflüssig zu bemerken, dass der Kautschukschlauch auf die Burette sowie auf das Ausflussröhrchen (mit einem gewichsten dünnen Faden) fest aufgebunden sein muss.

Durch Drücken auf die Knöpfe des Quetschhahns kann man denselben mehr oder minder weit öffnen und die Flüssigkeit entweder in

einem Strahle oder in einzelnen Tropfen ausfliessen lassen. Man füllt die Burette in der Weise, dass man in dieselbe bei geschlossenem Hahn Flüssigkeit bis oben giesst, dann den Hahn weit öffnet, so dass die Flüssigkeit in starkem Strahl ausfliessen kann; dadurch wird die Luft welche im Kautschukschlauch sonst sitzen bleiben würde, aus ihm entfernt. Auch kann man durch Kneten des Kautschukschlauchs während des Ausfliessens das Entfernen der Luft aus dem Kautschukschlauch befördern. Man schliesst dann den Quetschhahn und giesst die Flüssigkeit in die Burette nach. Die Burette muss bis zur untersten Spitze des Ausflussröhrchens mit Flüssigkeit gefüllt sein.

Wenn man mit Flüssigkeiten arbeitet, deren Zusammensetzung durch die Berührung mit dem Kautschuk verändert werden könnte, so kann man eine Quetschhahnburette nicht gebrauchen. Man bedient sich dann sogen.

Fig. 27.

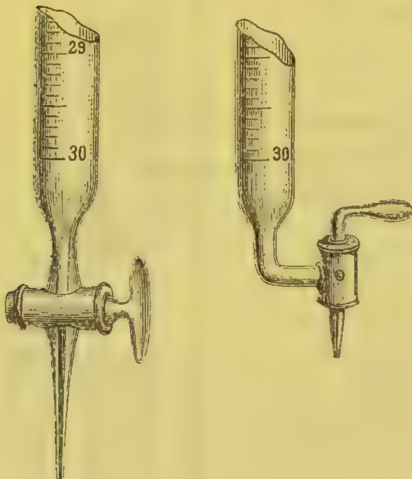
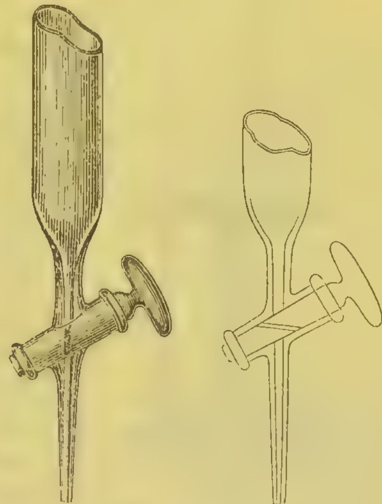


Fig. 28.



Glashahnburetten, von welchen zwei verschiedene Arten in Fig. 27 abgebildet sind. Die Art ihres Gebrauchs ist ohne Weiteres verständlich.

Bei den gewöhnlichen Glashähnen mit gerader Bohrung schleifen die scharfen Ränder der Hahnbohrung mit der Zeit eine kreisrunde, um den Hahn von Loch zu Loch laufende Rinne in die Hahnfassung und die Burette schliesst nach häufigem Gebrauch, auch wenn der Hahn gut eingeschliffen war, nicht mehr. Dieser Uebelstand ist bei den Hähnen mit schiefer Bohrung (Fig. 28) umgangen[1]). Die Figur links zeigt die Burette bei offenem Hahn, die rechts, nachdem der Hahn um 180° gedreht ist.

---

[1]) C. Meissner (Franz Hugershoff in Leipzig), Chem. Centralbl. 1887. 135. — Greiner u. Friedrichs in Stützerbach, Thüringen, Ztschr. f. analyt. Ch. 26. 49.

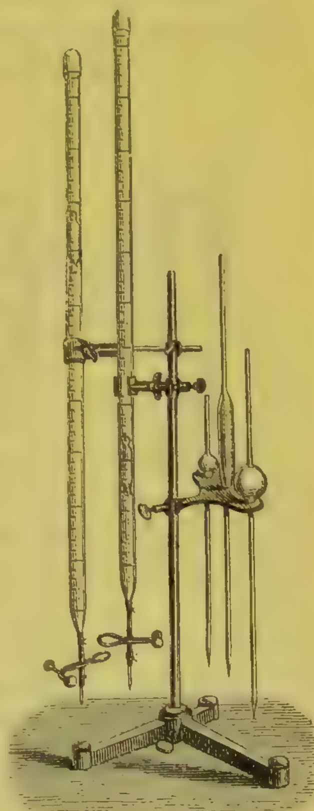
Für das Aufstellen der Buretten bedarf man besonderer Halter. Am Zweckmässigsten richtet man sie so ein, dass man mehrere Buretten, sowie die erforderliche Anzahl Pipetten neben einander auf ein und demselben Gestell hat. Zwei solche Buretten- oder Titrirgestelle werden durch Fig. 29 und 30 veranschaulicht.

Das Gestell, Fig. 29, besteht aus einer auf drei Füssen ruhenden Holzplatte, in deren Mitte ein dünner ca. 45 cm langer Stab senkrecht eingeschraubt ist. Ueber diesen Stab ist ein hölzerner Cylinder geschoben, der oben und unten je eine Holzscheibe von ca. 16 cm Durchmesser in einem Abstand von ungefähr 20 cm trägt. Der Cylinder lässt sich um den Stab drehen und auf dem Stab auf und ab bewegen; er kann ferner in beliebiger Höhe auf dem Stab festgestellt werden durch einen Drahtstift, für den unterhalb der unteren Platte im Stabe eine Reihe von Löchern vorhanden sind; auf diesem Stift ruht die untere Platte. Die obere und die untere Scheibe haben senkrecht über einander entweder einfache Löcher zur Aufnahme der Pipetten, oder Löcher, die nach dem Rand der Scheibe ausgeschnitten sind, für die Aufnahme der Buretten. Das obere Loch ist so weit, dass der Körper der Burette in ihm Platz hat, das untere so weit, dass das Ausflussrohr mit dem Kautschukschlauch hindurch kann, die Burette aber auf dem Rand des Lochs aufsitzt; die Ausschnitte in den Löchern sind aber nicht so gross, dass die eingesetzte Burette aus dem Gestell herausfallen kann, sondern nur dem Kautschukschlauch Durchgang gewähren. Eine leere Burette setzt man einfach so ein, dass man sie nach Wegnahme des Quetschhahns von oben durch die beiden Löcher schiebt und dann den Quetschhahn anlegt. Zur Einführung einer bereits gefüllten Burette bringt man erst den oberhalb des Quetschhahns befindlichen Theil des Kautschukschlauchs durch den Ausschnitt in das obere Loch, führt die Burette hinab bis zu dem unteren Loch und schiebt dann den Kautschukschlauch durch den Ausschnitt desselben, indem man ihn ein wenig zusammenpresst. In umgekehrter Ordnung dieser Operationen kann man auch eine gefüllte Burette aus dem Gestell herausnehmen.

Fig. 29.



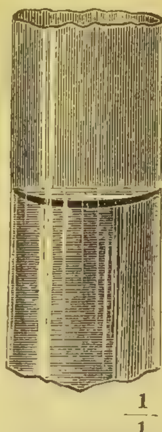
Fig. 30.



In dem Gestell Fig. 30 ist ein ungefähr 45 cm langer Metallstab in den eisernen Dreifuss eingelassen; dieser Stab ist in dem Dreifuss drehbar und kann durch Anziehen der kleinen Schraube in dem Dreifuss festgestellt werden. Die Buretten werden in Klammern befestigt, wie sie die sog. Universalgestelle haben. An dem Stab bewegt sich eine Metallhülse auf und ab, welche durch eine Flügelschraube an dem Stab festgestellt werden kann; das Loch der Hülse hat einen Ausschnitt, so dass man die Hülse nach dem Lockern der Schraube von dem Stab abnehmen kann, ohne sie der Länge nach über den Stab wegziehen zu müssen. Auf der der Flügelschraube entgegengesetzten Seite hat die Hülse einen kurzen Ansatz mit einem horizontal und rechtwinklig zur Achse der Hülse gebohrten Loch zur Aufnahme des Stiels der eigentlichen Klammer. Durch eine zweite Flügelschraube kann der Stiel der Klammer gleichfalls festgestellt werden. Am äusseren Ende des Stiels hat die Klammer zwei gegeneinander in einem Scharniere bewegliche Backen, die durch eine Spiralfeder auseinander gehalten werden und durch eine dritte Flügelschraube einander genähert werden können. Die Klammer fasst die Burette zwischen ihre mit Kork gefütterten Backen. Es ist leicht ersichtlich, dass man mittelst dieser Vorrichtung die Burette beliebig hoch oder nieder stellen sowie sie dem Stab nähern oder von ihm entfernen kann. Die Drehbarkeit des Stabes im Dreifuss gestattet überdem, die Buretten im Kreise zu bewegen, ohne dass man den Fuss zu verrücken braucht. Ausser den Klammern trägt das Gestell noch eine durchbrochene Scheibe zur Aufnahme der Pipetten.

Wenn man eine Burette zur quantitativen Bestimmung eines Körpers verwendet, so notirt man sich zunächst den Stand der Flüssigkeitsoberfläche auf der Scala der Burette, lässt dann aus der Burette Flüssigkeit ausfliessen, bis die Reaction zu Ende ist und bestimmt den jetzigen Stand der Flüssigkeitsoberfläche wieder. Die Differenz zwischen den beiden Ablesungen ist gleich dem Volumen der verbrauchten Flüssigkeit. Hätte z. B. die Flüssigkeitsoberfläche zuerst bei der Marke 1,2 gestanden, und zu Ende der Reaction bei 17,5, so hätte man 17,5 — 1,2 = 16,3 cc Flüssigkeit verbraucht. Nach demselben Verfahren kann man von vornherein bestimmte Volumina Flüssigkeit bis auf Zehntel Cubikcentimeter genau abmessen. Eine Schwierigkeit erwächst bei dem Gebrauch der Burette nur für das Ablesen des Flüssigkeitsstandes; die Flüssigkeitsoberfläche bildet keine Ebene, sondern ist nach unten concav und erscheint in der Seitenansicht als Meniscus (Fig. 31). Man liest nur dann den Stand der Flüssigkeit richtig ab, wenn man die Stelle der Scala aufsucht, auf welcher sie von einer horizontalen Ebene geschnitten wird, welche rechtwinklig zur Längsachse der Burette den Scheitel des Meniscus tangirt. Demgemäss muss man das Auge in eine solche Lage bringen, dass es längs dieser imaginären Ebene blickt. Dies zu erreichen ist ohne Hülfsapparate schwer und es kann daher leicht geschehen, dass man sich beim direkten Ablesen, je nachdem das Auge zu hoch oder zu nieder steht, um 0,1—0,2 cc nach unten oder nach oben irrt, ein Fehler, welcher beim genauen Titriren nicht mehr zulässig ist. Diesem Uebelstand wird dadurch abgeholfen, dass man auf die Oberfläche der Flüssigkeit einen sog. Burettenschwimmer

Fig. 31.



$\frac{1}{1}$

(Fig. 24, S. 643) aufsetzt. Derselbe besteht aus einem hohlen Glascylinder, welcher das Lumen der Burette genau ausfüllen soll, doch so dass er in der leeren Burette noch hin und hergleitet, ohne stecken zu bleiben; andererseits darf er nicht zu dünn sein, denn solche bleiben leicht mit einer Seite an der Wand der Burette haften und lassen die Flüssigkeit neben sich abfliessen, ohne ihr zu folgen. In dem Schwimmer ist so viel Quecksilber eingeschmolzen, dass er in der betreffenden Reagenslösung in aufrechter Stellung schwimmt, also eintaucht, jedoch nicht tiefer, als bis dahin, wo der cylindrische Körper des Schwimmers eben in die konische Zuspitzung übergeht. An der Spitze trägt der Schwimmer eine Oese, an welcher man ihn mittelst eines Hakens, z. B. der hakenförmig gekrümmten Spitze eines dünnen Glasstabs, aus der Burette ziehen kann, wenn es nöthig sein sollte. Der Schwimmer hat in der Mitte seines Körpers einen feinen Kreisstrich eingeschnitten, durch welchen, wenn er in der Burette steckt, eine Ebene angezeigt wird, welche rechtwinklig zur Achse der Burette steht. Da der Schwimmer so beschwert ist, dass er immer gleich tief in die Flüssigkeit eintaucht, einem Araeometer vergleichbar, so wird die Ebene des Kreises immer den gleichen Abstand von der Oberfläche der Flüssigkeit haben, mag die Burette viel oder wenig Flüssigkeit enthalten. Sinkt die Flüssigkeit um eine einem bestimmten Volumen entsprechende Strecke, so sinkt die durch den Kreis des Schwimmers markirte Ebene genau um dieselbe Strecke. Liest man aber den Stand der Flüssigkeit immer nach der Lage der fraglichen Ebene ab, so kennt man zwar den Stand der Flüssigkeitsoberfläche nicht, aber die Ablesungen geschehen ebenso richtig, als wenn man genau immer nach der Flüssigkeitsoberfläche abläse. Bei dem Gebrauch des Schwimmers hat man das Auge in eine solche Lage zu bringen, dass der vorn um den Schwimmer laufende Strich des Kreises den rückwärtigen deckt; der Kreis erscheint dann als eine einfache gerade Linie; die Stelle der Scala, an welcher diese Gerade zu liegen kommt, bezeichnet den Stand des Schwimmers. Zu schwere Schwimmer sinken schneller, als die Flüssigkeit, sie tauchen beim raschen Ablaufen der Flüssigkeit tiefer in diese ein als bei ruhigem Stand derselben; solche Schwimmer sind noch zu brauchen, doch muss man vor dem Ablesen des abgeflossenen Volumens dem Schwimmer Zeit lassen, wieder zu steigen, oder darf, wenn man ein bestimmtes Volumen abmisst, die Flüssigkeit gegen das Ende nur abtropfen lassen.

Bei dem Gebrauch der Burette hat man sie also zunächst so zu füllen, wie oben angegeben wurde. Ist die Luft aus dem Kautschukrohr oder aus dem Glashahn entfernt und die Flüssigkeit wieder nachgefüllt, dann setzt man den Schwimmer ein; befinden sich unter ihm

oder zwischen seinem Körper und der Burettenwand Luftblasen, so taucht man ihn mit einem Glasstab unter, so dass die Luft nach oben entweicht, lässt ihn wieder aufsteigen, und dann durch Oeffnen des Hahns so viel Flüssigkeit abfliessen, dass der Schwimmerstrich genau mit einem Strich der Scala zusammenfällt, z. B. mit 0. Hängt an dem Ausflussröhrchen noch ein Tropfen, so nimmt man diesen weg. Die Burette ist dann für den Gebrauch fertig.

In den ersten, von O. L. Erdmann construirten Schwimmern war das Quecksilber in den Schwimmern frei beweglich; die Folge davon war, dass die Wand des Schwimmers bald undurchsichtig und der Schwimmer dadurch unbrauchbar wurde. Um diesen Nachtheil zu beseitigen, schmilzt man jetzt nach Volhard's Vorschlag den Quecksilbertropfen in einem besonderen Abschnitt des Schwimmers ein, wie in Fig. 24 ersichtlich ist. Es giebt übrigens noch Schwimmer von anderer Construction.

Nicht überflüssig ist es zu bemerken, dass die Striche auf dem Schwimmer und auf der Burette nicht dick sein dürfen, sondern möglichst dünn sein müssen.

Die Flüssigkeit muss die Burette ganz gleichmässig benetzen und darf nicht in einzelnen Tropfen an der Wand sitzen bleiben. Geschieht das, so spült man die Burette erst mit Wasser aus, dann mit schwacher Natronlauge und reibt die noch mit Lauge befeuchtete Wand tüchtig mit Fliesspapier ab. Man bedient sich dazu eines dünnen Holzstabes, in dessen unteres Ende etwa auf eine Strecke von 5 cm mehrere Reihen kleiner Drahtstifte eingeschlagen sind, deren Spitzen ungefähr 1 mm vorstehen und umwickelt dieses Ende straff mit einem Streifen Fliesspapier. Dieser Papierwischer muss so dick sein, dass er die Burette gut ausfüllt, aber sich doch noch mit einiger Leichtigkeit in der Burette hin und her bewegen lässt. Zuletzt wird die Burette mit destillirtem Wasser gut nachgewaschen.

Beim Gebrauch der Burette hat man dem Nachfliessen der Flüssigkeit Rechnung zu tragen. Entleert man die Flüssigkeit bis auf einen kleinen Rest, so steigt der Spiegel der zurückgelassenen Flüssigkeit, bei 50 cc-Buretten um 0,1 cc und mehr. Diese geringe Menge der sich wieder ansammelnden Flüssigkeit hat nicht Viel oder Nichts auf sich, denn auf dieses Nachfliessen muss schon beim Aichen der Buretten Rücksicht genommen werden. Anders ist es, wenn man ein kleines Volumen aus einer grossen Burette abzumessen hat. Dann muss man die Burette entweder bis zur oberen Marke füllen, oder muss, wenn man wenig Flüssigkeit in die Burette gegossen hat, warten, bis der Schwimmer nach einiger Zeit nicht mehr gestiegen ist. Nach einigen Minuten nimmt die Flüssigkeit nicht mehr zu.

B. Das Aichen der Maassgefässe.

Bei den quantitativen Analysen bedient man sich in praxi nicht absolut genauer Gewichte oder Maasse, d. h. solcher, welche mit dem ursprünglichen, in Paris aufbewahrten Normalkilogramm übereinstimmen, und ist dies auch nicht erforderlich. Was man allein anzustreben hat, ist das, dass die Gewichte unter einander übereinstimmen, also z. B. das 20-Grammstück genau 20 mal so schwer ist als das 1-Grammgewicht. Die gleiche Uebereinstimmung müssen bei der Maassanalyse nun auch die verschiedenen Maassgefässe unter einander zeigen; es muss z. B. jeder Cubikcentimeter der Burette gleich gross sein, aus einer Pipette zu 5 cc genau dasselbe Volumen ausfliessen, als wenn man aus der Burette 5 cc ablässt, die Maasscylinder und Maasskolben müssen im

Ganzen, und die Cylinder auch in ihren einzelnen Abschnitten mit den Buretten und Pipetten übereinstimmen. Ohne diese Uebereinstimmung ist es unmöglich, genaue Resultate zu erlangen. Es kann sich aber auch weiter eine völlige Uebereinstimmung der Maasse mit den Gewichten als nothwendig herausstellen, der Art also, dass 1 cc Wasser von bestimmter Temperatur genau 1 g wiegt.

Handelt es sich bei der Analyse eines Harns nur darum, zu erfahren, welche Veränderungen der Harn in seiner Zusammensetzung von Zeit zu Zeit, von einem Tag zum andern erfährt, z. B. ob die Stickstoff- oder die Zuckerausscheidung zu- oder abgenommen hat, so kommt man mit der einfachen Uebereinstimmung der Maassgefässe unter einander aus; es ist dann nicht einmal nöthig, dass man mit Reagenslösungen von genauem Titer arbeitet; die Verwendung einer Reagenslösung von irgend welchem Gehalt würde zu demselben Resultate führen, wenn man nur bei jeder Einzelbestimmung sich einer Lösung von derselben gleichbleibenden Concentration bedient. Wenn man aber einmal diese Constanz der Lösung herzustellen hat, so liegt kein Grund vor, eine andere Concentration zu wählen, als die für richtige Titrirungen. Man fertigt die titrirten Lösungen in der Weise an, dass man ein bestimmtes Gewicht Reagens zu einem bestimmten Volumen löst, oder dass man den Titer auf ein Gewicht reiner Substanz stellt; der Titer wird also nur dann richtig, wenn sich Gewicht und Maass entsprechen. Für eine gewisse Art von Untersuchungen ist aber die Uebereinstimmung von Maass und Gewicht unerlässlich, für solche nämlich, in welchen man die Einfuhr in den Thierkörper mit der Ausfuhr aus demselben vergleicht, z. B. ermittelt, wieviel von dem Stickstoff eines dem Gewicht nach gereichten Nahrungsmittels in den Ausscheidungen wieder erscheint, oder wenn man die Resultate mehrerer, auf verschiedenen Principien beruhender Methoden unter einander vergleicht, z. B. die Bestimmung des Zuckers durch Titriren und durch Polarisation.

Die Uebereinstimmung von Maassen und Gewichten ist aber nur schwer zu erreichen. Man kauft Maasse sowohl als Gewichte fertig; da nun die Gewichte verschiedener Fabrikanten unter einander ebenso wenig übereinstimmen als die Maasse verschiedener Bezugsstellen, so kann die Uebereinstimmung von Maass und Gewicht nur zufällig eintreffen. Man wird sich daher damit begnügen, den Grad der Uebereinstimmung der Maasse und Gewichte zu ermitteln und die Differenz bei der Ausführung der Analyse in Rechnung stellen. Dazu, sowie zur Prüfung der einzelnen Maassgefässe auf ihre Richtigkeit dient die Aichung.

Man nimmt die Aichung in der Weise vor, dass man ermittelt, welches Gewicht Wasser ein Maassgefäss, oder ein Abschnitt eines solchen fasst. Sind die Maassgefässe absolut richtig, so muss jeder Cubikcentimeter Wasser genau 1 g wiegen. Nach dem Vorgang von Mohr nimmt man als Normaltemperatur des Wassers allgemein 14° R. = 17,5° C. an, womit man allerdings von der idealen Norm abweicht, aber unter realen Verhältnissen, wie Mohr[1]) darthut, nur um eine relativ geringe Grösse. Die für das Messen von Gasen bestimmten

1) F. Mohr, Lehrbuch der Titrirmethode. 5. Aufl. 45.

Gefässe aber sollten auf Wasser von + 4 ⁰ C. geaicht sein. Nun nehmen 100 cc Wasser von 17,5 ⁰ C., wenn sie auf 4 ⁰ C. abgekühlt werden, einen um 0,122 cc kleineren Raum ein, der Fehler, der durch eine unrichtige Aichung (auf 17,5⁰ statt 4⁰) herbeigeführt wird, ist also unwesentlich.

Streng genommen sollte man also das Auswägen der Maaasgefässe mit Wasser vornehmen, dessen Temperatur genau 17,5⁰ C. beträgt. Doch sind die Volumenunterschiede gleicher Gewichte Wasser von verschiedener Temperatur nur gering; wenn ein Kilo Wasser von 17,5⁰ den Raum von 1000 cc einnimmt, so hat 1 Kilo Wasser von 10⁰ ein Volumen von 999,0 cc, von 14⁰ ein solches von 999,5 cc, von 20⁰ ein Volumen 1000,5 cc, von 25⁰ ein Volumen von 1001,6 cc. Berücksichtigt man nun, dass bei kleineren Volumen z. B. einigen Cubikcentimetern, die absosute Abweichung vom wahren Werthe noch viel kleiner wird und ferner, dass die Abmessungsfehler selbst noch grösser ausfallen können, als diese Abweichungen, so ist ersichtlich, dass man sich nicht ängstlich an die vorgeschriebene Temperatur von 17,5 C. zu halten braucht. Es genügt für das Auswägen der Maassgefässe dass die Temperatur des Wassers der von 17,5 bis auf einige Grade nahe kommt. Diese geringfügige Vernachlässigung der Temperatur hat weiter den Vortheil, dass man die Temperatur des Wassers und die des Wagezimmers gleich haben, somit die Wägungen schnell zu Ende führen kann.

1. Buretten. Man füllt die Burette mit destillirtem Wasser, welches die Temperatur des Wagezimmers angenommen hat — die 17,5⁰ möglichst nahe kommen soll —, lässt zunächst den ganzen Inhalt von 0 bis zum untersten Theilstrich in ein gewogenes Gläschen mit gut eingeschliffenem Stöpsel laufen und wägt das Wasser. Darauf füllt man die Burette wieder mit Wasser voll und wägt die Burette in einzelnen nicht zu grossen Abschnitten (von 3 zu 3 oder 5 zu 5 cc) aus. Man setzt dann die Gramme des gewogenen Wassers = Cubikcentimeter und erfährt so, wie viel Cubikcentimeter, den Gewichten entsprechend, die ganze Burette sowohl, wie die einzelnen Abschnitte in Wirklichkeit fassen. Da die einzelnen Messungen nie ganz genau ausfallen, so wiederholt man das Auswägen noch 1- oder 2 mal und nimmt von den Resultaten das Mittel. Diese Befunde schreibt man dann in tabellarischer Form auf, daneben die der Graduirung entsprechenden Zahlen und legt diese Calibrirungstabelle den eigentlichen Messungen zu Grunde. — Die Burette muss sich mit dem Wasser gleichmässig benetzen (A. 3. S. 649), es dürfen, wenn das Wasser abgelaufen ist, keine Wassertropfen an der Wand der Burette sichtbar bleiben.

Solche Answägungen kosten Zeit und sind für eine grössere Zahl von Buretten schwer ausführbar. Man hat daher schon vor langer Zeit — wenn ich mich recht erinnere, war Städeler der erste — vorgeschlagen, die Buretten durch Ausmessen mit richtigen Maassgefässen, Buretten oder Pipetten, zu aichen. Man lässt aus der Burette, welche geaicht werden soll, ein gewisses, zwischen 2 und 5 cc betragendes Volumen in das richtige Maassgefäss von unten aufsteigen (oder umge-

kehrt aus dem geaichten Maassgefäss in die Burette) und erfährt so, welches richtige Volumen die entleerte (oder gefüllte) Theilstrecke der Burette besitzt.

Die Burette muss dazu durch ein starres Rohr mit dem Maassgefäss verbunden sein; ich bediene mich dazu, nach Städeler's Vorgang, eines Bleirohrs. In dieses ist ein gut eingeschliffener Metallhahn eingeschaltet, damit man das Ausfliessen sofort unterbrechen kann, wenn der Schwimmer in der Burette den vorher gewählten Strich erreicht hat; Kautschukschlauch und ein Quetschhahn sind dazu nicht geeignet, weil der Kautschuk beim Schliessen des Quetschhahns zusammengepresst und der Schwimmer wieder etwas über die Marke emporgetrieben wird, der Kautschukschlauch überdem bei Lageveränderungen, sowie bei verschieden starker Füllung der Rohre seinen Inhalt ändert. Das Bleirohr steht nicht direkt mit Burette und Maassrohr in Verbindung, sondern jederseits mittelst ⊣förmiger Metallhähne, welche die selbstständige Entleerung von Burette und Maassrohr ermöglichen; die Wirbel dieser Hähne liegen tiefer als die Einmündungsstellen des Bleirohrs in die Hähne. Mit ihren oberen, schwach olivenförmigen Enden werden sie, mittelst kurzer Stücke so starkwandigen Kautschukschlauchs, wie er beim Evacuiren mit der Wasserluftpumpe Verwendung findet, an Burette und Maassrohr angefügt. Der Schlauch wird mit Draht auf den Rohren und den Hähnen wasserdicht festgebunden.

Hat man eine in allen oder wenigstens einzelnen Abtheilungen richtige Burette zur Verfügung — ich habe „Normalburetten" von F. Hugershoff in Leipzig bezogen, bei welchen die 5 cc umfassenden Abschnitte nur um ± 0,001 bis 0,05 cc von dem durch Wägung ermittelten Werthe abweichen — so kann man mit dieser andere Buretten auf ihre Richtigkeit prüfen. Man hat dabei nur noch darauf zu sehen, dass die Wand des Rohrs, in welches man die Messflüssigkeit eintreten lässt, vorher benetzt ist. Auf diese Weise lassen sich Buretten als richtig oder falsch erkennen, ihre Fehler aber nur schätzen.

Wegen ihrer Breite eignet sich die Burette nicht wohl zum genauen Ausmessen. Zweckmässiger ist dazu ein von Ostwald[1]) angegebenes Verfahren. Er bedient sich dazu einer 2—5 cc fassenden Pipette, mit welcher man ausser dem gewählten runden Volumen noch Hundertstel Cubikcentimeter ablesen, Tausendstel schätzen kann. Sie hat eine cylindrische Erweiterung in der Mitte (Fig. 23, S. 642, links) und zwei Marken. Man wägt zuerst die Pipette aus, indem man sie 10 bis 20 mal nach einander mit Wasser füllt, das Wasser in ein Gläschen mit eingeriebenem Stöpsel abfliessen lässt und das Gewicht des ganzen Volumens bestimmt. Dann hat man an der Pipette noch die Theilung anzubringen. Zu diesem Zweck klebt man einen schmalen Streifen Seidenpapier, vom Körper bis über die obere Marke hinaus, auf den Stiel der Pipette, füllt sie mit der soeben beschriebenen Vorrichtung aus einer richtigen Burette bis zur oberen Marke, und lässt einige Zehntel Cubikcentimeter Flüssigkeit zufliessen, indem man den Stand jeden Zehntel's auf dem Papierstreifen markirt. Ebenso theilt man den Stiel der Pipette unterhalb der Marke durch Ausfliessenlassen in Zehntel. Die Markirung nimmt man zweckmässig so vor, dass man einen gradlinig geschnittenen Streifen Carton oder biegsamen Blechs um den Stiel der Pipette herumlegt, die oberen freien Enden in eine Ebene bringt, mit dem gebildeten losen Ring den Meniscus der Flüssigkeit einvisirt und mit einem spitzen, nicht zu harten Bleistift an dieser Stelle einen Strich auf dem Papier zieht. Die Zehntel Cubikcentimeter theilt man der Länge nach wieder in Zehntel oder grössere Bruchtheile. Auch wenn die Pipette das gewählte Volumen nicht enthält, kann man sich so eine mit dem richtigen Volumen herstellen. Uebrigens verursacht es keine sehr grosse Mühe, aus einer grösseren Anzahl von Normalpipetten eine ganz richtige ausfindig zu machen;

---

[1]) W. Ostwald, Journ. f. prakt. Ch. [2] **25**. 452. 1882; Ztschr. f. analyt. Ch. **22**. 548.

Abweichungen von 0,001—0,002 cc bei 5 cc sind für gewöhnliche Messungen bedeutungslos.

Wenn die Burette, welche man aichen will, und die Pipette an dem Bleirohr befestigt sind, füllt man beide sowie das Bleirohr mit einer schwachen Sodalösung, welche vor Wasser den Vorzug hat, dass sie das Glas besser benetzt, treibt alle Luft aus dem Bleirohr aus, füllt darauf die Burette bis zum Nullstrich, die Pipette bis zur unteren Marke, lässt dann den Schwimmer in der Burette um 2 oder 5 cc (entsprechend dem Volumen der Pipette) sinken, liest das richtige Volumen an der geaichten Pipette ab, entleert die Pipette durch den seitlichen Hahn bis zur unteren Marke nach aussen, misst einen zweiten Abschnitt der Burette aus, u. s. f. Ostwald giebt eine schematische Darstellung des Aichapparats.

Selbstverständlich kann man auch umgekehrt die Burette aus der Pipette füllen und auf diese Weise unbezeichnete Glasrohre zur Herstellung von Buretten ausmessen. Ostwald beschreibt auch ein Verfahren zum Theilen der Buretten ohne Theilmaschine und zum Aetzen derselben.

Ein dem Ostwald'schen ähnliches Verfahren haben Morse und Blalock[1]) beschrieben.

2. Pipetten. Für die Pipetten ist eine Correctur nach der Calibrirung nicht verwendbar; sie sollen das genaue Volumen fassen. Man prüft sie entweder durch Auswägen derjenigen Wassermenge, welche sie ausfliessen lassen, oder durch Nachmessen dieser Wassermenge mit Hülfe einer richtigen Burette oder besser Pipette, wie beim Aichen der Buretten und mit demselben Apparate (B. 1.).

Wenn man eine Pipette bis zur unteren Marke hat auslaufen lassen und schliesst sie wieder, so bemerkt man, dass von der Wand noch Flüssigkeit nachrinnt und sich über der Marke ansammelt. Diese nachfliessende Menge ist grösser, wenn die Pipette schnell ausgeflossen ist, und umgekehrt. Wenn die Messungen gleich ausfallen sollen, so müssen sie in gleichen Zeiten ausgeführt werden. Man wählt dazu die Zeit, welche man zum Messen mit einer Pipette gewöhnlich braucht.

Nach der beschriebenen Methode kann man sich auch leicht selbst richtige Pipetten mit zwei Marken herstellen. Die Marken werden vorläufig auf Papierstreifen, welche auf die dünnen Rohre ober- und unterhalb der Ausweitung der Pipette aufgeklebt sind, wie B. 1 beschrieben, mit Bleistift aufgezeichnet und darauf mittelst eines Schreibdiamants in das Glas eingerissen. Ich lasse dazu die Pipetten in einem kleinen einer Drehbank ähnlichen Gestell rundlaufen. Der Diamant ist in einem Support befestigt, der sich auf den Schienen der Bank verschieben lässt; eine Mikrometerschraube am Support ermöglicht die genaue Einstellung des Diamants auf den Bleistiftstrich.

3. Maasscylinder und Maasskolben. Von den Maasscylindern unterscheidet man zweierlei Arten, solche, welche leer ein bestimmtes Volumen fassen (Eingusscylinder) und solche, aus welchen man ein bestimmtes Volumen ausgiessen kann (Ausgusscylinder). In dem Cylinder bleibt beim Ausgiessen ein Rest Flüssigkeit zurück und wenn man daher aus einem Eingusscylinder von 1 *l* die Flüssigkeit ausgiesst, so beträgt das ausgegossene Volumen weniger als 1 *l*. Ebenso wenig kann man einen Ausgusscylinder ohne Weiteres zum Messen eines

---

[1]) Morse u. Blalock, Amer. chem. Journal **16**. 479; Ztschr. f. analyt. Ch. **34**. 745. 1895.

Volumens Flüssigkeit brauchen, die in ihn hineingefüllt wird. Die graduirten Cylinder aicht man am Bequemsten mit einer richtigen oder mit einer durch die Calibrirungstabelle richtig gestellten Burette.

Aichen der Eingusscylinder. Man klebt auf den Cylinder der Scala entlang einen Streifen dünnen glatten Papiers und stellt dann den Cylinder lothrecht auf einen festen Tisch auf. Das Loth fertigt man aus einem Faden, der nur wenig gedreht ist (Garn) und den man durch ein angebundenes kleines Gewicht vertikal spannt. Alsdann misst man in den Cylinder aus der Burette eine bestimmte, nicht zu grosse Menge verdünnter Sodalösung, in einen Litercylinder, z. B. 25 oder 50 cc, doch so, dass keine Flüssigkeit an die Wand des Cylinders verspritzt wird, und markirt den Stand der Flüssigkeit auf dem Papierstreifen mittelst des Carton- oder Blechbandes, wie B. 1 S. 652 angegeben. Unterbricht man das Ausmessen des Cylinders auf längere Zeit, so muss man sich überzeugen, ehe man mit dem Einlassen der Flüssigkeit fortfährt, ob die freie Wand des Cylinders nicht mit Wasserdampf beschlagen ist, und ob der Meniscus noch zur letzten Markirung die richtige Stellung einnimmt.

Aichen des Ausgusscylinders. Das Verfahren unterscheidet sich von dem Aichen des trocknen Cylinders nur dadurch, dass man die Wand des Cylinders während des Ausmessens benetzt hält. Man füllt den Cylinder zuerst ganz mit verdünnter Sodalösung an, giesst ihn aus, misst das bestimmte Volumen ein und markirt den Stand des Cylinders. Jedesmal, ehe man eine neue Portion Flüssigkeit einmisst, muss man die Wand des Cylinders durch Neigen desselben wieder benetzt haben.

Die Maasskolben misst man entweder mit einem Ausgusscylinder aus oder bestimmt das Gewicht destillirtes Wasser, welches sie bis zur Marke fassen, durch Substitutionswägung (vergl. § 58).

§ 53. Das Titriren.

Bei der Maassanalyse ermittelt man das Gewicht des Körpers, welcher bestimmt werden soll, aus demjenigen Volumen einer Reagenslösung von bekanntem Gehalt, welches geradeauf zur Vollendung einer Reaction (Fällung, Zersetzung etc.) verbraucht wird. Diejenige Menge Substanz, welche durch die Volumeinheit der Reagenslösung (1 cc, 1 l) gefunden wird, heisst der Titer oder der Wirkungswerth der Lösung. Damit die Resultate richtig ausfallen, muss der Titer der Reagenslösung aufs Genaueste bekannt sein, ebenso sich die Menge dieser verbrauchten titrirten Lösungen genau bestimmen lassen; muss sich die Beendigung der Reaction, d. h. der Punkt, wo man gerade genug von der titrirten Flüssigkeit zugesetzt hat, scharf auf eine deutliche augenfällige Art zu erkennen geben; muss sich die Zersetzung, auf deren Vollführung die Analyse beruht, unter gleichen Bedingungen, stets gleich bleiben, und muss endlich die Zersetzung so geleitet werden, dass von den auf einander wirkenden Agentien nichts verloren geht.

Den Titer der Lösungen stellt man in dreierlei Weise.

I. Es wird der Lösung eine solche Concentration ertheilt, dass die Volumeinheit ein Gewicht Substanz in runder Zahl anzeigt, z. B. 1 cc der Lösung 10 mg Chlornatrium oder Harnstoff oder 5 mg P_2O_5 oder

Zucker. Solche Lösungen mit willkürlichem Titer erhält man, indem man berechnet, wieviel Reagens in einem bestimmten Volumen der Titrirflüssigkeit enthalten sein muss, und dann die Lösung einer abgewogenen Menge Reagens auf die gewählte Concentration bringt (die abgewogene Menge Reagens zu dem bestimmten Volumen löst).

Soll z. B. von einer Silbernitratlösung 1 cc 10 mg Na Cl anzeigen, so muss sie im Liter, wie die Berechnung ergiebt, 29,042 g $AgNO_3$ enthalten. Man wägt eine beliebige Menge Silbernitrat ab; es sei das Gewicht = 18,587 g gefunden worden. Diese Menge Salz muss demnach gebracht werden auf eine Lösung von $\frac{18,587 \cdot 1000}{29,042} = 640$ cc. Es wird die gesammte gewogene Menge Silbernitrat in weniger als 640 cc Wasser gelöst, die Lösung ohne Verlust in einen Maasscylinder gegossen, die Schale, in welcher das Silbersalz gelöst wurde, mit Wasser einige Male nachgespült, endlich die gesammte Flüssigkeit auf ein Volumen von 640 cc aufgefüllt, und die Flüssigkeit gut umgeschüttelt.

Wo dieses Verfahren wegen der mangelhaften Reinheit des Reagens oder der Inconstanz seiner Zusammensetzung u. dergl. nicht ausführbar ist, stellt man sich eine Lösung der Substanz, welche bestimmt werden soll, von bekanntem Gehalt her, ertheilt der Reagenslösung eine etwas zu starke Concentration, bestimmt ihren Gehalt durch Titriren der Substanzlösung und verdünnt diesem Befund entsprechend die Reagenslösung.

Man braucht z. B. eine Rhodanammonlösung, von welcher ein Volumen genau das Silber einer Lösung mit 29,042 g Silbernitrat im Liter fällen soll. Die Rhodanammonlösung müsste dazu im Liter 12,984 g enthalten. Da sich aber das Rhodanammon wegen seiner hygroskopischen Beschaffenheit nicht genau genug abwägen lässt, so stellt man eine Lösung mit mehr als der berechneten Menge her, löst z. B. 8 g in 0,5 l Wasser. Mit dieser unrichtigen Rhodanlösung titrirt man 25 cc der Silberlösung; es seien dazu 19,8 cc der Rhodanlösung verbraucht worden. Man hat also je 19,8 cc der Rhodanlösung auf 25 cc zu verdünnen, um ihr den richtigen Titer zu ertheilen.

II. Man bedient sich der Normallösungen. Eine Normallösung ist eine solche, welche im Liter die 1 g Wasserstoff aequivalente Menge wirksamer Substanz enthält. Eine Normalsalzsäure soll demnach im Liter $1 + 35,45 = 36,45$ g HCl (das Molekulargewicht in Gramm), eine Normalnatronlauge $1 + 23 + 16 = 40$ g HNaO, eine Normalschwefelsäure die Hälfte von $2 + 32 + 4 \cdot 16 = \frac{98}{2} = 49$ g H_2SO_4 (das halbe Molekulargewicht in Gramm) enthalten. Eine $^1/_{10}$ Normallösung ist eine auf das 10 fache verdünnte Normallösung, eine zweifache Normallösung ist zweimal so concentrirt als die Normallösung u. s. w.

Kaliumpermanganat $KMnO_4$ giebt bei der Oxydation in saurer Lösung $2^1/_2$ Atom Sauerstoff ab = 5 At. Wasserstoff; eine Normal-Permanganatlösung soll also den 5. Theil ihres Molekulargewichts, $158,1 \times 0,2$ in g enthalten.

Für gewisse Fälle, auf welche die Anwendung der Definition der Normallösung mit Unsicherheiten verbunden ist, wie z. B. bei den Phosphaten, darf man unter Normallösung eine solche verstehen, welche das Molekulargewicht des Reagens in Gramm im Liter gelöst enthält.

Die Normallösungen geben zwar das Gewicht der titrirten Substanz nicht in runder Zahl an, sind aber für die Rechnung sehr bequem. Man erfährt durch sie nicht blos das Gewicht der Substanz, auf welche sie gestellt sind, sondern sofort auch das anderer. Verbraucht man 100 cc Normalsalzsäure zur Neutralisation einer Lauge, so enthält diese 2,3 g Na oder 2,0 g Ca oder 1,7 g NH_3 = 1,4 g N u. s. w.; fängt man Ammoniak in 100 cc Normalsalzsäure auf und verbraucht man zur völligen Neutralisation der Säure noch 50 cc Normalnatron, so ist die Säure zur Hälfte mit Ammoniak gesättigt, enthält also 0,85 H_3N = 0,7 g N gebunden u. s. w. Vor den Lösungen mit willkürlichem Titer haben sie ferner die leichte Herstellbarkeit voraus.

Normallösungen bereitet man wieder in zweierlei Weise, nämlich indem man entweder eine abgewogene Menge des Reagens auf eine Lösung von berechnetem Volumen bringt, oder indem man der neuen Lösung eine solche Concentration ertheilt, dass ein Volumen derselben dasselbe Volumen einer durch Wägung bereiteten Lösung der anderen Substanz sättigt.

Durch Verdünnen von 18,6 cc kalt gesättigter Steinsalzlösung auf 1 l erhält man eine 0,1 n. (richtig 0,09986 n.) Lösung. Ertheilt man einer Silbernitratlösung eine solche Concentration, dass ein Volumen von ihr das Chlor aus dem gleichen Volumen der Kochsalzlösung geradeauf niederschlägt, so ist die Silbernitratlösung gleichfalls 0,1 n.

Dieses Verfahren der Titerstellung einer Lösung auf die andere findet vor Allem Anwendung bei der Bereitung der Normallaugen und der Normalsäurelösungen. Die durch Wägung hergestellten Lösungen, von welchen man ausgeht, heissen Urlösungen, die Farbstoffe, deren man sich bedient, um das Ende der Reaction zu erkennen, Indicatoren.

A. Zur Herstellung von Urlösungen sind in der Acidimetrie folgende Salze vorgeschlagen worden.

a. Natriumcarbonat. Chemisch rein erhält man das Salz nach einer von Reinitzer[1]) angegebenen guten Vorschrift. Man sättigt 250 cc Wasser bei 80° mit gepulvertem käuflichen Natriumbicarbonat, was unter lebhafter Kohlensäureentwicklung vor sich geht, filtrirt durch ein Faltenfilter im Heisswassertrichter und kühlt auf 10—15° ab. Dabei krystallisirt ein Gemeng von Bicarbonat und vierdrittelkohlensaurem Natron aus. Man saugt auf einem (mit einer Glaskugel oder einem Platinkonus) lose verstopften Trichter ab und wäscht mit kaltem Wasser chlorfrei in der Weise, dass man das Salz mit einer Scheibe aus Filtrirpapier bedeckt, so dass der Rand der Scheibe noch auf der Trichterwand aufliegt, und die Scheibe mit dem Wasser übergiesst. Man kann auch das erhaltene Salz durch Umkrystallisiren rein erhalten, allerdings unter grossem Verlust (Huppert); man nimmt dazu 1 kg. Bicarbonat in Arbeit. Das Umkrystallisiren ist darum vorzuziehen, weil manchmal das Salz durch Auswaschen nur sehr schwer oder gar nicht vom Chlor zu befreien ist. Das reine Salz wird dann durch Erhitzen in

[1]) B. Reinitzer, Ztschr. f. angewandte Ch. 1894. 547; Ztschr. f. analyt. Ch. 34. 575. 1895; Chem. Centralbl. 1894. 2. 714.

einer Platinschale vom Wasser und der überschüssigen Kohlensäure befreit. Nach dem Erkalten des Salzes über Schwefelsäure wird von ihm in einem verschliessbaren dünnwandigen Glase (Fig. 47) eine Portion abgewogen und in so viel Wasser gelöst, dass im Liter 53 g desselben enthalten sind.

b. Oxalsäure, $C_2H_2O_4$, $2H_2O$. Die käufliche Oxalsäure ist wegen ihres Gehaltes an Salzen nicht brauchbar; aschefreie Oxalsäure erhält man aber nach Riechelmann [1]) leicht durch Umkrystallisiren aus Aether (Extraction im Soxhlet-schen Apparat, und einmaliges Krystallisiren aus Wasser). 63 g im Liter geben eine Normallösung. Zur Titerstellung mittelst Oxalsäure ist Lackmus zu verwenden. Methylorange giebt keine scharfe Endreaction.

c. Kaliumtetraoxalat, HKC_2O_4, $H_2C_2O_4$, $2H_2O$. An Stelle der Oxalsäure ist von Stohmann, sowie von Ulbricht und Meissl das Tetraoxalat vorgeschlagen worden. Das käufliche Salz (Sauerkleesalz) besteht wohl nur selten aus der reinen Verbindung. Man erhält sie rein, wenn man das käufliche oder das aus kohlensaurem Kali und Oxalsäure bereitete Salz zuerst aus einer siedenden Oxalsäurelösung und darauf aus Wasser umkrystallisirt. Bei der Behandlung des Salzes mit Oxalsäure ist einstündiges Kochen erforderlich. Man verwendet das Salz wasserhaltig. Das Salz ist auf seine Reinheit zu untersuchen, und dies geschieht am Besten dadurch, dass man über einer abgewogenen Menge desselben (ungefähr 1,2 g) Schwefelsäure abraucht, den Rückstand glüht und wägt (Huppert). Das wasserhaltige Salz giebt dabei 34,28 % K_2SO_4; die Analysen stimmen gut. 1 Thl. Kaliumsulphat entspricht 2,917 g Tetraoxalat. Durch Bestimmung des Krystallwassers lässt sich das Salz nicht auf seine Reinheit prüfen; in der Wärme sublimirt aus ihm Oxalsäure. Das Salz hält sich in trocknem Zustand, und die sterilisirte Lösung nach Ulbricht und Meissl gut. Die Lösung lässt sich nicht mit Methylorange, auch nicht mit Lackmoid titriren, weil der Farbenübergang ganz allmählich erfolgt; man titrirt mit Lackmus, oder bei Abwesenheit von Ammoniak nach Parsons [2]) auch mit Phenolphtalein.

Das Salz lässt sich auch in schwefelsaurer Lösung vorzüglich zur Titerstellung von Permanganatlösung verwenden, wozu es zuerst von Kraut [3]) vorgeschlagen wurde.

Die gegen die Verwendbarkeit des Tetraoxalats von verschiedenen Seiten erhobenen Bedenken sind nicht stichhaltig.

d. Kaliumbitartrat, $C_4H_5KO_6$, von H. Bornträger, Heidenhain und A. Bornträger empfohlen. Zur Darstellung des Salzes soll man nach H. Bornträger eine concentrirte Weinsäurelösung mit einer concentrirten Kaliumacetatlösung ausfällen, den Niederschlag mit 50 proc. Alkohol waschen und bei 90° trocknen. A. Bornträger erhitzt käuflichen weissen Weinstein mehrere Stunden mit ungefähr auf das 10 fache verdünnter Salzsäure, lässt unter Umrühren erkalten und krystallisirt den gewaschenen Niederschlag aus Wasser um. Nach Parsons [4]) ist dagegen ein dreimaliges Umkrystallisiren aus verdünnter Salzsäure

[1]) R. Riechelmann, Ztschr. f. öffentl. Ch. 3. 13; Chem. Centralbl. 1897. 1. 539.

[2]) Stohmann, Muspratt's technische Chemie, Aufl. 1876. 3. 2065. — R. Ulbricht u. E. Meissl, Ztschr. f. analyt. Ch. 26. 350. 1887. — Ch. L. Parsons, Journal of analyt. and applied Chemistry. 6. 735; Ztschr. f. analyt. Ch. 32. 453.

[3]) Kraut, Henneberg's Journ. f. Landwirthschaft 1856. 112; Chem. Centralbl. 1856. 741; Ztschr. f. analyt. Ch. 26. 629.

[4]) H. Bornträger, Chemikerztg. 1881. 519; Ztschr. f. anal. Ch. 30. 226. 1891; 31. 55. — H. Heidenhain, Pharmac. Rundschau 1890. 133; Ztschr. f. analyt. Ch. 30. 226. — A. Bornträger, Ztschr. f. analyt. Ch. 25. 333; 31. 43; 34. 431. — Parsons, Journ. of analyt. Chemistry 6. 380; Ztschr. f. analyt. Ch. 32. 453; Chem. Centralbl. 1892. 2. 897.

erforderlich. Als rein erweist sich das Salz, wenn es zum Neutralisiren ebensoviel Normallauge braucht als seine vorsichtig bereitete Asche Normalsäure. 0,1881 g sättigen 1 cc Normallauge. Das Salz ist nach Parsons gegen Lackmus nicht so empfindlich wie Tetraoxalat, mit Phenolphtalein giebt es aber nach Heidenhain einen vorzüglichen Farbenumschlag. Hält sich in trockenem Zustand unverändert.

Die Verwendung der Asche eines abgewogenen Theils zur Titerstellung von Säuren ist nach A. Bornträger bereits 1880 von Gabba vorgeschlagen worden.

e. **Borax, $Na_2B_4O_7$, empfohlen von Salzer, von Rimbach sowie von** Perman und John. Das Salz eignet sich deshalb zur Titerstellung von Säuren, weil es nach Joly die Farbe der gebräuchlichen Indicatoren nicht ändert, verdünnte Borsäure (0,1 proc.) aber auf diese kaum einwirkt. Das Salz krystallisirt in der Kälte mit $10\,H_2O$ (prismatischer B.), aus über 70° warmen oder übersättigten Lösungen aber nur mit $5\,H_2O$ (oktaedrischer B.). Ein- bis zweimal umkrystallisirtes und in fein geriebenem Zustand lufttrocken gewordenes Salz ist nach Rimbach genügend rein (mit $10\,H_2O$). Salzer verlangt einen Glühverlust von 39,12% ($10\,H_2O$) und Richmond hält eine Wasserbestimmung durch halbstündiges Glühen in der Muffel für unerlässlich. Wegen seiner Schwerlöslichkeit lassen sich Normallösungen von ihm nicht herstellen; man bereitet daher zweckmässig 0.1 normale (mit 10.1 g wasserfreiem oder 19.1 g des Salzes mit $10\,H_2O$ im Liter), jedoch ist eine Lösung mit 1 g Salz in 20 cc Wasser nach Richmond empfindlicher. Man kann mit der Säure in die Boraxlösung titriren (Rimbach), titrirt aber nach Salzer sicherer mit der Boraxlösung in die Säure bis zum Verschwinden der sauren Reaction (mit Lackmus bis Violett). Bei der Titrirung von concentrirten Säuren kann man nach Salzer Methylorange brauchen, bei der Verwendung verdünnter Mineralsäuren oder organischer ist Lackmus vorzuziehen und die Titrirung nur dann sicher, wenn die Säure nicht stärker als 0.1 normal. **Crismer[1]) empfiehlt als besonders geeigneten Indicator Resazurin.**

2. Indicatoren.

a. Lackmus ist nur neutral zu verwenden, ein Tropfen der Tinctur soll reines Wasser rosenroth, mit einem Stich in's Blaue, färben. Vorschriften zur Darstellung solcher Lösungen nach Mays und nach Reinitzer S. 30. Man färbt die Lösung, welche titrirt werden soll, schwach mit der Lackmustinctur und titrirt bis zu dem Farbenton, welchen mit der Tinctur versetztes Wasser aufweist. Bei Gegenwart von Ammoniak wird eine alkalische Flüssigkeit nicht rein blau, sondern nur violett. Gegen Bicarbonat neutral. Titrirt man Säure mit Lauge, so tritt ein Punkt ein, bei welchem auf Zusatz eines Tropfens Lauge die Flüssigkeit beim Mischen blau wird, aber sofort wieder nach Violett zurückgeht; auch diesen Punkt **kann man als Endreaction benützen.**

b. Resazurin wird von Crismer als Ersatz für Lackmus empfohlen, verhält sich gegen Alkalien und Säuren wie dieses, giebt aber lebhaftere und schönere Färbungen. Man soll 0,1 g des Farbstoffs in 0,8 cc 0,5 normalem Ammoniak lösen und auf 0,5 l verdünnen; 2 Tropfen der Lösung genügen für 200—300 cc Flüssigkeit. Nicht im Handel; eine Vorschrift zur Darstellung giebt Nietzki[2]).

c. Methylorange, in neutraler und alkalischer Lösung, auch in Gegenwart von Bicarbonat gelb, in saurer zart roth; der Farbenumschlag lässt sich neben einer neutralen Probe scharf erkennen. Ist noch bei 0,1 normalen Lösungen sehr

---

1) Th. Salzer, Berichte d. chem. Gesellsch. **26**. 430; Ztschr. f. analyt. Ch. **32**. 419 u. 529. 1893. — E. Rimbach, Berichte **26**. 171. — E. P. Perman u. W. John, Chem. News **71**. 206; **72**. 84; Ztschr. f. analyt. Ch. **35**. 338. 1896; Chem. Centralbl. 1895. **2**. 411. — A. Joly, Comptes rendus **100**. 103. 1885. — H. D. Richmond, Chem. News **72**. 5; Ztschr. f. analyt. Ch. **35**. 338; Chem. Centralbl. 1895. **2**. 412. — Crismer, Rev. intern. des falsif. **9**. 126; Chem. Centralbl. 1896. **2**. 562.

2) Crismer, a. a. O. — R. Nietzki, A. Dietze und H. Mäckler, Berichte d. chem. Gesellsch. **22**. 3022.

empfindlich, auch neben Ammonsalz, versagt aber bei verdünnteren. Ein brauner Farbstoff, von welchem es bisweilen begleitet ist, lässt sich nach Richmond[1]) durch Umkrystallisiren aus Alkohol beseitigen.

d. Rosolsäure (Corallin; in alkoholischer Lösung), färbt Wasser, Säuren und Bicarbonat bräunlich gelb, Alkalihydrat und -carbonat rosenroth. Sehr empfindlich gegen Säuren; schon der Kohlensäuregehalt des destillirten Wassers erfordert einen nicht unerheblichen Zusatz von Lauge bis zur dauernden Rothfärbung. Beim Titriren von Säure wird die Flüssigkeit zuerst farblos und das Roth erst nach Verbrauch von mehr Alkali beständig. Für Ammoniak nach Boorsma[2]) zwar der empfindlichste Indicator, aber die Empfindlichkeit nimmt ab mit der Verdünnung der Lösung und mit der Temperatur.

e. Cochenille (S. 30) färbt Alkali violett, auf Zusatz von Säure nimmt die Flüssigkeit einen stärker blauen Ton an und wird bei neutraler Reaction rosenroth; ein Ueberschuss an Säure führt das Roth nach längerer Zeit in gelb über. Beim Titriren von Säure mit Alkali wird die gelbe Flüssigkeit zuletzt rosenroth, der Uebergang ist aber nicht scharf, und das Roth nimmt beim Stehen langsam zu. Bei Verwendung einer schwach sauren Controlprobe sind noch ziemlich sichere Resultate zu erlangen.

f. Phenolphtalein (in alkoholischer Lösung) in Wasser, in Säuren und in Bicarbonatlösungen farblos, wird durch eine Spur Alkalihydrat oder Alkalicarbonat schön roth, aber schon durch Kohlensäure wieder entfärbt. Zeigt Ammoniak nicht an.

Andere Indicatoren sind bei geeigneter Gelegenheit erwähnt.

3. Ausführung der Titerstellung bei der Bereitung der gebräuchlichsten Lösungen.

Wenn man von einer Normalsodalösung (S. 656) ausgeht, verfährt man z. B. in folgender Weise.

a. Normalsalzsäure. Man verdünnt reine Salzsäure so, dass im Liter voraussichtlich etwas mehr als 36,5 g H Cl enthalten sind; Salzsäure von 1,122 Dichte enthält in 9 cc 2,5 g H Cl. Ferner misst man genau 25 cc Normalsoda in ein Kölbchen, färbt die Flüssigkeit mit einigen Tropfen gesättigter wässriger Methylorangelösung gelb und lässt unter Umschwenken aus einer Burette von der verdünnten Salzsäure zufliessen, bis die Mischung einen Stich nach Roth zeigt. Das Kölbchen muss dabei schief gehalten werden, damit durch die stürmisch entweichende Kohlensäure nicht etwa Flüssigkeit aus dem Kölbchen herausgeschleudert wird. Vom Kölbchenhals wird, so oft als nöthig, verspritzte Flüssigkeit oder haften gebliebene Säure mit destillirtem Wasser abgespült. Durch diese Titration erfährt man, wieviel Cubikcentimeter verdünnter Salzsäure zur Neutralisation der 25 cc Sodalösung erforderlich waren. Verbraucht man weniger als 25 cc, so ist die Säure zu concentrirt, verbraucht man mehr, so ist sie zu verdünnt. In letzterem Fall muss man der verdünnten Säure noch soviel concentrirte Salzsäure hinzusetzen, dass die Mischung zu concentrirt wird. Die zu concentrirt gefundene Säure hat man nach Maassgabe der Titrirung zu verdünnen; sind zum Neutralisiren der 25 cc Sodalösung z. B. 24,5 cc Salzsäure verbraucht worden, so hat man je 24,5 cc der Säure auf 25 cc zu verdünnen. Man darf sich jedoch nicht mit der Verdünnung allein begnügen, sondern hat die Richtigkeit der Verdünnung durch eine abermalige Titrirung zu prüfen, arbeitet jetzt aber mit einem grösseren Volumen, z. B. 49 cc. Die Concentration ist richtig getroffen, wenn die Mischung gleicher Volume Sodalösung und verdünnter Säure (nach dem Abspritzen des Kölbchenhalses) noch gelb ist, auf Zusatz einer weiteren Spur Salzsäure aber einen Stich nach Roth zeigt.

---

[1]) H. D Richmond, Chem. News **72**. 5; Ztschr. f. anal. Ch. **35**. 338.

[2]) P. A. Boorsma, Nederl. Tijdschr. voor Pharm. **6**. 171; Chem. Centralblatt 1894. **2**. 254.

Verwendet man Lackmus als Indicator, so setzt man Säure zu bis zu Violett und kocht dann im schief liegenden Kölbchen, bis keine weitere Farbenveränderung eintritt. Anfangs wird die Flüssigkeit wieder blau, weil bei dem Säurezusatz gegen Lackmus neutrales Bicarbonat entstanden ist; beim Kochen geht dieses unter Abgabe von Kohlensäure in das alkalisch reagirende normale Salz über. Ist die richtige Säuremenge getroffen, so bleibt die Lösung auch bei minutenlangem Kochen violett. Diese Art der Titerstellung nimmt mehr Zeit in Anspruch, als die mit Methylorange.

b. Normalschwefelsäure wird nach demselben Verfahren hergestellt, wie die Normalsalzsäure. Concentrirte Schwefelsäure, von 1,84 Dichte, enthält ungefähr 98,5 % H_2SO_4, 10 cc enthalten demnach ungefähr 18,1 g H_2SO_4. Die Normalsäure soll im Liter 49 g H_2SO_4 enthalten.

c. Die Normalsäuren dienen wieder zur Herstellung von Normallaugen. Normalnatronlauge. Sie soll 40 g Na HO im Liter enthalten. Das käufliche Natriumhydrat besteht nicht blos aus Na HO, sondern ist wenigstens wasserreicher, enthält auch noch andere fremde Substanz, was übrigens für die Titrirung nicht schadet. Das hat man beim Abwägen des Natriumhydrats zu berücksichtigen. Auch kann man von vorräthiger concentrirter Lauge ausgehen, deren Gehalt an Na HO man durch eine vorläufige Titrirung oder annähernd durch Ermittelung der Dichte mittelst des Aräometers bestimmt. Man titrirt unter Verwendung von Methylorange als Indicator mit der Normalsäure in die Lauge, und verfährt dabei wie bei der Herstellung der Normalsalzsäure. Der Lauge wird zuletzt die richtige Verdünnung ertheilt. Titrirt man mit Methylorange, so hat ein Kohlensäuregehalt der Lauge Nichts auf sich und die fertige Lauge ändert ihren Titer nicht, auch wenn sie Kohlensäure anzieht, was bei Verwendung von Lackmus als Indicator nicht der Fall ist.

In ähnlicher Weise kann man auch die übrigen Ursubstanzen zur Bereitung von Laugen und Säuren mit bestimmtem Titer benützen. Von ihnen empfiehlt sich vor Allem die reine Oxalsäure wegen der Einfachheit ihrer Darstellung und Verwendung.

Es ist zu rathen, dass man sich bei der Titerstellung desselben Indicators bedient, den man bei den Titrirungen zu benützen gedenkt, für welche die Lösungen hergestellt wurden, oder man überzeuge sich, ob die Titrirungen mit verschiedenen Indicatoren (dem für die Titerstellung und dem für die Analyse) übereinstimmen. Auch titrire man bei der Titerstellung in derselben Weise, wie bei der Ausführung der Analyse, z. B. mit der Lauge in die Säure.

Bei der endgültigen Titerstellung titrire man nicht blos mit einigen Cubikcentimetern, sondern mit möglichst grossen Volumen (gegen 50 cc). Schwächere Normallösungen, wie $^1/_{10}$, $^1/_4$ n. kann man aus concentrirteren durch Verdünnen herstellen; doch verlasse man sich nicht auf die blose Verdünnung, sondern controlire durch Titriren auf eine Normallösung. Die Lösungen werden in Flaschen mit gut schliessendem Kautschukstöpsel aufbewahrt.

Auf die Volumänderung der Titrirflüssigkeiten mit der Temperatur braucht man in der Regel keine Rücksicht zu nehmen. Von einer grösseren Anzahl Titrirflüssigkeiten hat übrigens A. Schulze[1]) die Ausdehnung durch die Wärme bestimmt.

III. Lösungen mit empirischem Titer. Von Lösungen, welche ihren Titer beim Aufbewahren ändern, wie z. B. Jodjodkaliumlösung, stellt man solche von annähernd der gewünschten Concentration her (z. B. $^1/_{10}$ normal) und bestimmt ihren Titer jedesmal vor dem Gebrauch.

---

[1]) A. Schulze, Ztschr. f. analyt. Ch. **21**. 167.

§ 54. Bestimmung der Dichtigkeit.

Die Dichtigkeit des Harns lässt sich bestimmen 1) mittelst des Aräometers, 2) mittelst der hydrostatischen Wage, 3) durch Wägen eines abgemessenen Volumens, 4) mittelst des Pyknometers.

Die Mittel sind von ungleichem Werthe. Mittelst des Pyknometers kann man die Dichte am Genauesten bestimmen. Bei den Aräometern wird das Resultat in ungünstiger Weise beeinflusst durch die capillar an der Spindel aufsteigende Flüssigkeit, deren Höhe für verschiedene Flüssigkeiten verschieden ist. Die Aräometer gestatten daher die Bestimmung der Dichte gewöhnlich nur bis auf die dritte Decimale sicher und bis auf die vierte nach Fock[1]) nur dann, wenn sie für eine bestimmte Flüssigkeit oder für eine bestimmte Gattung von Flüssigkeiten (Salzlösungen) angefertigt sind.

Bei der Wahl des Verfahrens hat man sich also nach dem beabsichtigten Zweck zu richten. Für die gewöhnlichen ärztlichen Zwecke genügt ein Aräometer (Urometer); für die Bestimmung von Substanzen (Eiweiss, Zucker) aus der Dichtedifferenz vor und nach der Entfernung derselben sind die schärferen Bestimmungsweisen zu wählen.

Fig. 32.



Die Urometer lassen eine Dichte zwischen 1,000 — dem spec. Gewicht des Wassers — und wenigstens 1,040 ermitteln — so ziemlich die höchste Dichte, welche der menschliche Harn zeigt. Um mit diesen Instrumenten die möglichste Genauigkeit zu erreichen, ist es zweckmässig, die Dichtigkeiten von 1,000—1,040 auf zwei Spindeln zu vertheilen, so dass die eine die von 1,000 bis 1,020, die andere dagegen die von 1,020 bis 1,040 anzeigt; die Abstände der Theilung sind auf diesen grösser als auf den einfachen Aräometern und es wird dadurch die Möglichkeit gegeben, auch noch Bruchtheile eines Grades bis auf $^1/_4$ oder $^1/_2$ abschätzen zu können.

Jolles hat statt der Urometer mit runder Spindel, um den Capillaritätsfehler zu vermeiden, Spindeln mit elliptischem Querschnitt empfohlen; nach Lohnstein[2]) wird der Fehler dadurch nur höchstens um $^1/_4$ herabgesetzt.

Um die Dichte mit nur 20—25 cc Harn bestimmen zu können, hat Jolles[2]) entsprechend kleine Urometer herstellen lassen, die auf der Spindel nur von 1,000—1,010 getheilt sind. Sie haben an der Spindel über der Skala einen ringförmigen Wulst, auf welchen sich scheibenförmige, im Centrum durchbohrte Gewichte aufsetzen lassen, von solcher Schwere, dass die Spindel zwischen 1,010 und 1,030 um je 10 Theilstriche herabgedrückt wird, durch das vierte Gewicht aber nur bis 1,045. Das Instrument ist zu beziehen von H. Kappeller in Wien, oder von M. Wallach in Cassel.

---

[1]) A. Fock, Ztschr. f. physikalische Ch. **2**. 296. 1888.

[2]) A. Jolles, Wiener med. Presse 8. 1897; Ztschr. f analyt. Ch. **36**. 221. — Th. Lohnstein, Centralbl. f. innere Med. **12**. 1897.

Lohnstein[1]) hat ein Urometer entworfen, durch welches der Capillaritätsfehler vermieden werden kann und das deshalb eine Bestimmung der Dichte bis zur vierten Decimale sicher zulässt. Das Urometer besteht aus einem am unteren Ende beschwerten Schwimmkörper, dessen oberes Ende horizontal abgeschliffen ist und trägt hier auf einem kurzen Stab eine flache Schale. Durch Gewichte, welche, wie bei der Nicholson'schen Senkwage auf die Schale gelegt werden, wird der Schwimmkörper so weit eingetaucht, dass das abgeschliffene Ende desselben genau mit der Ebene des Wassers zusammenfällt (»Archimedische Anordnung«). Das Urometer zeigt in einer Flüssigkeit von 1,0000 (von 15°) diese Lage; in einer schwereren Flüssigkeit geben die Zusatzgewichte die Decimalen an.

Die richtige Stellung des Urometers in der Flüssigkeit erkennt man daran, dass das Spiegelbild eines geradlinigen Gegenstandes auch an der äusseren Kante des Schwimmerrandes geradlinig erscheint. Taucht das Instrument nicht ganz senkrecht ein, so bildet die Flüssigkeit an der Oberfläche auf der einen Seite eine concave, an der anderen Seite eine convexe Krümmung, und auch hier lässt sich die Gleichheit der Krümmung aus dem Spiegelbild eines geradlinigen Gegenstandes erkennen. — Um zu verhüten, dass die Flüssigkeit über den abgeschliffenen Rand fliesst, füllt man die Flüssigkeit zunächst nur bis zu einer am Cylinder befindlichen Marke und fügt dann mit einer Pipette vorsichtig noch Flüssigkeit nach. An der Art der Krümmung der Flüssigkeitsoberfläche am Urometer erkennt man, ob es zu stark oder zu schwach belastet ist.

Für noch schärfere Messung hat Lohnstein[2]) ein auf dem gleichen Princip beruhendes Aräometer für die Intervalle von 0,7—2,0 angegeben. An diesem bewegt sich die Gewichtsschale unterhalb des Cylinders in einer Führung. — Beide Instrumente liefert L. Reimann, Berlin S. O., Schmiedstr. 32.

Die Angaben der Urometer gelten nur für die Temperaturen, für die sie geaicht sind. Um richtige Werthe zu erhalten, hat man entweder dem Harn die betreffende Temperatur zu ertheilen, oder eine Correctur anzubringen. Die gewöhnlichen Urometer sind für 17.5° geaicht. Nach Simon, sowie nach Beneke hat man für je 3° C. über dieser Temperatur der Ablesung 0,001 hinzuzuzählen und umgekehrt. — Die Angaben des Lohnstein'schen Urometers gelten für 15°. Für andere Temperaturen muss die abgelesene Dichte mit dem Faktor 1—0.000,025 (t—15) multiplicirt werden. — Um dem Harn die gewünschte Temperatur zu ertheilen, stellt man den Cylinder mit Harn und dem Urometer in ein hohes Becherglas, welches höher mit kälterem oder wärmerem Wasser gefüllt ist, als die Flüssigkeit im Cylinder reicht und lässt den Harn die gewünschte Temperatur annehmen. Das Wasser und der Harn müssen dabei fortwährend umgerührt werden. Am Einfachsten geschieht dieses durch Einblasen von Luft bis auf den Boden der Gefässe.

Für einigermaassen genaue Arbeiten ist es unerlässlich, die Richtigkeit der Urometer mit Salzlösungen zu prüfen, deren Dichte man mit dem Pyknometer bestimmt hat. Sind sie mit Thermometern versehen, so sind auch diese mit einem Normalthermometer zu vergleichen.

---

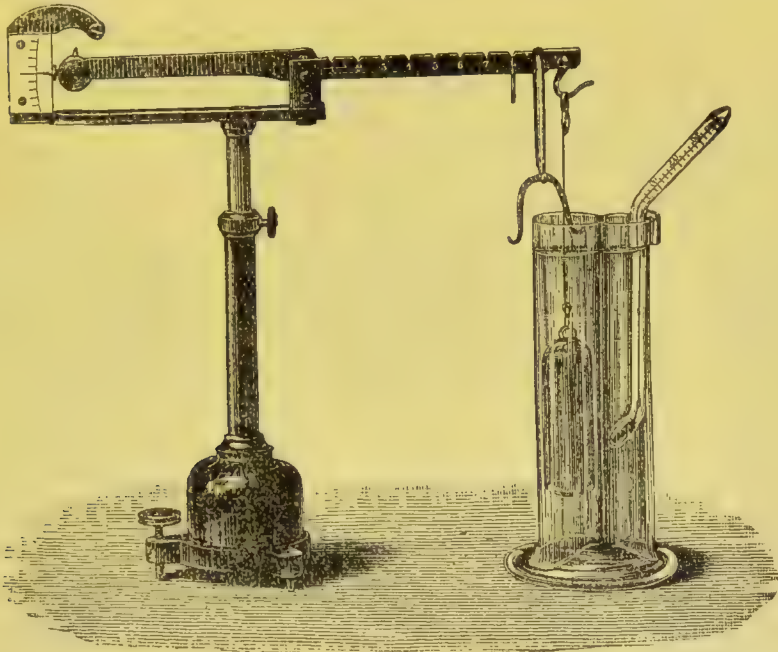
1) Th. Lohnstein, Allgem. med. Centralztg. **31**. 1894; Pflüger's Arch. **59**. 491. 1895; Chem. Centralbl. 1895. **1**. 74; Chemiker Ztg. 1896. 559; Chem. Centralbl. 1896. **2**. 457.

2) Th. Lohnstein, Ztschr. f. Instrumentenkunde **14**. 164. 1894; Pflüger's Archiv und Chem. Centralbl. a. a. O.

Zur Bestimmung der Dichte mit dem Aräometer füllt man einen Standcylinder mit dem klar filtrirten Harn zu $^4/_5$ in der Weise, dass man den Cylinder beim Eingiessen des Harns schief hält, so dass der Harn keinen Schaum bildet; dennoch entstandenen Schaum entfernt man mit Fliesspapier, und senkt nun die vollkommen saubere Spindel langsam ein. Der Cylinder muss nothwendig eine solche Weite haben, dass die Spindel ganz frei in der Flüssigkeit schwimmt und an keiner Stelle der Glaswandung anliegt. Das Ablesen nimmt man vor, indem man unter dem Meniscus den Flüssigkeitsspiegel entlang visirt und die Stelle abliest, wo dieser die Skala schneidet.

2. Bestimmung mit der Mohr-Westphal'schen hydrostatischen Wage. Ein Körper wird in einer Flüssigkeit um das

Fig. 33.



Gewicht leichter, welches das Volumen Flüssigkeit beträgt, das er einnimmt. Man kann also das Gewicht eines Volumens Harn, d. h. sein spec. Gewicht bestimmen, wenn man ermittelt, um wie viel ein fester Körper im Harn an Gewicht verliert. Nach diesem Princip ist die Mohr-Westphal'sche Wage (Fig. 33) construirt.

Die Wage besteht aus einem Stativ, auf welchem ein Wagbalken ruht, dessen äusserer Schenkel, wie der Wagbalken einer analytischen Wage, in 10 gleiche Theile getheilt ist, ferner einem Senkkörper, welcher an einem Platindraht hängend in die Flüssigkeit taucht und aus einer Anzahl Reitergewichten, von denen jedes 0,1 soviel wiegt, als das nächst

grössere. Befindet sich der Senkkörper in Wasser von 15° C. — auf diese Temperatur ist die Wage geaicht — so steht der Zeiger der Wage auf 0 der Skala, wenn das grösste Gewicht noch zu dem Senkkörper in den diesen tragenden Haken gehängt wird. Das Gewicht wiegt also genau soviel, als dasjenige Volumen Wasser von 15°, welches der Senkkörper und das eintauchende Stück Platindraht zusammen verdrängen. Der Harn ist schwerer als Wasser, man wird daher noch andere Reiter auf die Einschnitte der Wage setzen müssen, um das Gleichgewicht herzustellen. Man kann dabei, wenn nöthig, einen Reiter in die Oese eines anderen hängen. Das grösste Gewicht giebt die Einheit an, jedes folgende Gewicht die Decimalen; für jeden Reiter wird derjenige Bruchtheil seines Gewichts in Rechnung gebracht, welcher durch die Zahl des Einschnitts ausgedrückt wird, in welchem der Reiter sitzt. Die Wage giebt die Dichte nur für die dritte Decimale sicher an.

Bei den ursprünglichen Westphal'schen Wagen besteht der Senkkörper aus einem kleinen Thermometer von willkürlichem Gewicht und für jeden Senkkörper müssen daher die Gewichte besonders abgepasst werden. In denen neuerer Construction nach Rumann, welche durch Fig. 33 veranschaulicht werden, ist der gläserne Senkkörper massiv und besitzt stets mit Einschluss des Platindrahts sowohl dasselbe absolute Gewicht als auch denselben Rauminhalt, der Art, dass er stets 10 g destillirtes Wasser von 15° verdrängt. Von den zugehörigen Reitern wiegt der grösste 10 g, der nächst kleinere 1 g u. s. f. Durch diese Einrichtung ist nicht blos dem Senkkörper eine grössere Festigkeit verliehen, sondern es passt auch jeder Senkkörper zu jedem Gewicht und zu jeder Wage, so dass man bei Verlust des einen oder anderen Theils leichter Ersatz schaffen kann, als bei den Wagen älterer Construction. Auch lassen sich die Gewichte leichter auf ihre Richtigkeit prüfen als früher. Bei der Rumann'schen Wage besteht das Flüssigkeitsgefäss aus zwei mit einander communicirenden Cylindern, in deren einen ein Thermometer eingesenkt werden kann. — Der Platindraht, an welchem der Senkkörper hängt, darf mit keinem von anderer Stärke vertauscht werden.

Hydrostatische Wagen älterer Construction können von G. Westphal in Celle (Hannover), die (patentirten) Rumann'schen von F. Sartorius und von C. Rumann, Hannover, bezogen werden.

3. Das Wägen eines abgemessenen Volumens zur Bestimmung der Dichte ist wiederholt, so von Scherer, neuerdings von Brügelmann[1]) vorgeschlagen worden. Es werden aus einer genauen Burette gegen 50 cc Harn in ein Fläschchen gemessen, das sich durch einen gut eingeschliffenen Stöpsel verschliessen lässt, und gewogen. Das Gewicht getheilt durch das Volumen ergiebt die Dichtigkeit.

Das Princip ist dasselbe, wie bei der Dichtebestimmung durch das Pyknometer; während man bei diesem aber von der Uebereinstimmung des gewogenen Volumens mit den Gewichten unabhängig ist, erfordert das vorgeschlagene Verfahren diese Uebereinstimmung. Bei Erfüllung dieser Bedingung dürften die Resultate annähernd so genau sein, wie bei Bestimmungen mit dem gewöhnlichen Pyknometer. Man hat die Temperatur der Flüssigkeit zu berücksichtigen.

---

1) G. Brügelmann, Ztschr. f. analyt. Ch. 21. 178.

4. Die Bestimmung mit dem Pyknometer geschieht in bekannter Weise dadurch, dass man ein und dasselbe Volumen destillirtes Wasser und Flüssigkeit (Harn) wägt und das Gewicht der Flüssigkeit durch das des Wassers dividirt. Die Volumgleichheit wird dadurch herbeigeführt, dass man dasselbe Gefäss nach einander mit beiden Flüssigkeiten bis zu der gleichen Marke füllt. Beide Flüssigkeiten müssen nach dem Füllen des Gefässes dieselbe Temperatur besitzen, bei der Wägung sollen sie dagegen die Temperatur des Wageraumes angenommen haben.

Pyknometer, welche man ganz voll füllen muss, sind dazu nicht geeignet, weil sie überlaufen, wenn die Flüssigkeit nach dem Einfüllen wärmer wird; aus solchen mit capillar durchbohrtem Stöpsel verdunstet überdem auf der Wage fortwährend Flüssigkeit. Man kann nur solche Pyknometer brauchen, welche oberhalb der Marke noch einen lufthaltigen Raum zur Aufnahme der sich ausdehnenden Flüssigkeit besitzen und die überdem luftdicht verschlossen werden können.

A. Das Kölbchen-Pyknometer besteht aus einem dünnwandigen, 25—50—100 cc fassenden Kölbchen mit eingeschliffenem Stöpsel und einer den Hals ringförmig umlaufenden feinen Marke weit unter dem Stöpsel. Der Hals soll eng sein, weil man bei der Einstellung von Flüssigkeit auf die Marke in einem selbst unter 1 cm weiten Kölbchen Fehler von mehreren Hundertstel Cubikcentimeter begehen kann. Kölbchen, welche die Marke an einer verengten Stelle des Halses tragen, wie Fig. 34, sind daher den gewöhnlichen vorzuziehen.

Fig. 34.



Das vollständig gereinigte und trockne Pyknometer wird, nachdem es die Temperatur des Wageraums angenommen hat, gewogen, darauf mit destillirtem Wasser von bestimmter Temperatur bis zur Marke gefüllt, äusserlich abgetrocknet und, nachdem es wieder constante Temperatur angenommen hat, wieder gewogen. Beide Gewichtsbestimmungen werden ein für allemal notirt und allen Dichtebestimmungen zu Grunde gelegt. Das Pyknometer wird dann ausgeleert, getrocknet und mit (filtrirtem) Harn von derselben Temperatur als wie das Wasser abermals bis zur Marke gefüllt und gewogen. Man wählt immer dieselbe Temperatur (17,5^0 C.).

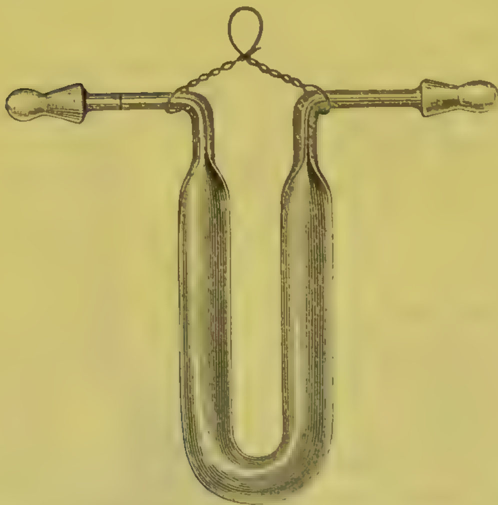
Das Füllen nimmt man vor mit einem spitz ausgezogenen Trichter oder einer ebensolchen geräumigen Pipette, welche man bis über die verengte Stelle des Halses hinabführt. Die gewählte Temperatur ertheilt man dem Inhalt, indem man das Pyknometer gefüllt so lang in Wasser von constant gehaltener Temperatur taucht (d. §. 1.), bis nach längerem Warten das Niveau in der Nähe der Marke constant geworden ist. Denselben Zweck erreicht man, wenn man die Flüssigkeit in einem grösseren verschliessbaren Gefäss mit eingesenktem Thermometer in das

Gefäss mit Wasser stellt, bis die Flüssigkeit die gewünschte Temperatur angenommen hat. Man füllt dann erst mit ihr das gleichfalls auf diese Temperatur gebrachte Pyknometer. Hat sich das grössere Gefäss, in welchem der Harn abgekühlt oder erwärmt wurde, innen mit Wasserdampf beschlagen, so spült man diesen durch passendes Neigen des Gefässes mit dem Harn ab. Da der Fehler in der Dichtebestimmung, welchen man bei der Vernachlässigung der Temperatur macht, zwischen 10 und 20^0 für die Temperaturdifferenz von 1^0 0,0001—0.0002 beträgt, so ist das Einhalten gleicher Temperaturen nur bei genauen Bestimmungen erforderlich; auch lässt sich der begangene Fehler unter Zuhilfenahme des Ausdehnungscoefficienten des Wassers annähernd corrigiren. Die über der Marke stehende Flüssigkeit wird mit einer Capillare weggenommen, fehlende nachgefüllt und der Hals des Kölbchens von aller innen anhaftenden Flüssigkeit durch Fliesspapier befreit, was jedoch seine Schwierigkeiten hat.

Nach dem Gebrauch des Pyknometers unterlasse man nicht, den Harn auszugiessen, das Pyknometer sofort auszuwaschen und zu trocknen.

B. Das Sprengel'sche Pyknometer. Dem Füllen des Kölbchens mit engem Hals setzt die entweichende Luft Schwierigkeiten entgegen, die in Gefässen mit zwei engen Mündungen, eine für die Aufnahme der Flüssigkeit und eine für den Austritt der Luft, umgangen werden. Den Mündungen lässt sich dann auch jede wünschenswerthe Enge ertheilen und der bei der Einstellung durch die Niveauunterschiede begangene Fehler auf ein äusserst geringes Maass einschränken. Solche, von Sprengel erdachte Pyknometer entsprechen allen Anforderungen an eine genaue Dichtebestimmung.

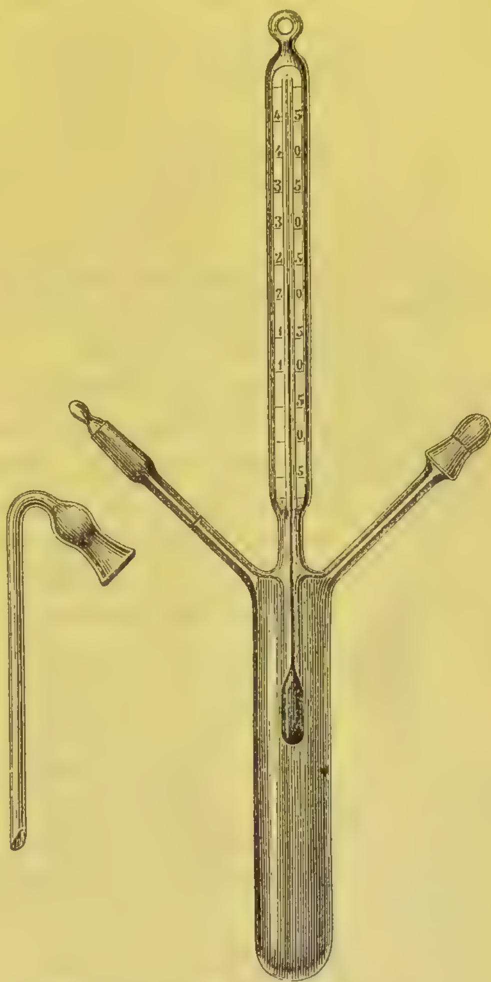
Fig. 35.



Das Sprengel'sche Pyknometer kann U-förmig, wie in Fig. 35, oder cylindrisch sein, wie in Fig. 36. Das eine der Rohre ist capillar, das andere, welches etwas weiter ist, trägt die Marke. Beide sind luftdicht durch Kappen oder Stöpsel verschliessbar. Man füllt das Pyknometer, indem man das capillare Rohr in die Flüssigkeit taucht und an dem andern Rohr mittelst eines Kautschukschlauchs oder eines Schliffstücks saugt, bis die Flüssigkeit in das zweite Rohr getreten ist. Nachdem die Rohre äusserlich gereinigt sind, bringt man das Pyknometer durch Eintauchen in Wasser auf die gewählte Temperatur (d. §. 1.), was bei dem in Fig. 36 abgebildeten Pyknometer durch das eingeschmolzene Thermometer erleichtert wird. Ist sie erreicht, so stellt man die Flüssigkeit auf die Marke ein, indem man fehlende Flüssigkeit aus einem capillar ausgezogenen Glasrohr in den capillaren Schenkel des Pyknometers fliessen lässt, überflüssige mit einem spitz zugeschnittenen Papierstreifen aus dem capillaren Schenkel wegnimmt. Der Meniscus der Flüssigkeit tangire die Ebene der Marke. Man hat darauf zu achten, dass auch der capillare Schenkel immer gleich weit gefüllt, und, wenn er eine konische Bohrung besitzt, diese also immer leer ist. Nach Vollendung der Füllung schliesst man zuerst den capillaren Schenkel durch die aufgeschliffene Kappe, und dann erst den mit der Marke, weil durch das Aufsetzen des Verschluss-

stücks Flüssigkeit aus dem zuerst geschlossenen Schenkel in den noch offenen getrieben wird, aber nur der Schenkel mit der Marke Platz hat für die Aufnahme dieser Flüssigkeit. Das Pyknometer wird abgetrocknet und gewogen, wenn es die Temperatur des Wageraums angenommen hat. Füllung und Wägung werden zur Sicherung des Resultats wiederholt. Die Wägungen bei zwei aufeinander folgenden Füllungen brauchen bei einem 10—15 g Wasser fassenden Pyknometer 0,1 mg nicht zu übersteigen und sollen es für genaue Bestimmungen auch nicht. Nach der letzten Wägung saugt man das Pyknometer mittelst der Wasserluftpumpe leer, saugt erst mehrere Male Wasser, dann Alkohol, darauf Aether durch und endlich den Aetherdampf weg, wonach das Pyknometer für eine weitere Benutzung bereit ist.

Fig. 36.



Der Schenkel mit der Marke muss horizontal liegen, wie in Fig. 35; dem in Fig. 36 hat man die entsprechende Neigung zu geben; besser ist es, wenn auch bei diesem Pyknometer die Schenkel beiderseits horizontal umgebogen sind.

§ 55. Polarisation.

A. Das Princip. Alle Polarisationsinstrumente haben 2 Bestandtheile gemein, einen Polarisator, welcher das in den Apparat eintretende Licht polarisirt und einen zweiten gleichfalls polarisirenden Apparat, den Analysator, welcher dazu dient, zu ermitteln, ob ein hinter dem Polarisator eingeschalteter Körper eine Drehung der Polarisationsebene bewirkt hat, in welchem Sinne dies geschehen ist und in welchem Grade. Bestehen Polarisator und Analysator aus Nicol'schen Prismen und sind beide so aufgestellt, dass ihre Achsen in eine Linie fallen und ihre Hauptschnitte einander parallel sind, so zeigt sich, wenn man in der Richtung der Achsen durch Polarisator und Analysator blickt, das Maximum der Helligkeit, und wenn die Hauptschnitte rechtwinklig auf einander stehen, das Maximum der Dunkelheit. Dreht man nun den Polarisator um seine Achse, so nimmt, je nach der Anfangsstellung der beiden Prismen zu einander, dem »Nullpunkt«, die Helligkeit oder die Dunkelheit des Gesichtsfeldes ab, weil die Ebene des polarisirten Strahls dem Hauptschnitte des Analysators nicht mehr parallel oder zu ihm

nicht mehr rechtwinklig ist; es lösst sich aber die ursprüngliche Helligkeit oder Dunkelheit wieder herstellen, wenn man den Analysator in derselben Richtung und um denselben Winkel dreht, wie den Polarisator. Eine solche Drehung der Polarisationsebene, wie sie im leeren Instrument durch das Drehen des Polarisators hervorgerufen wird, bewirkt nun auch die Lösung einer optisch activen Substanz, welche bei der Nullstellung beider Nicol'schen Prismen hinter den Polarisator eingeschaltet wird, und es erscheint darum das Gesichtsfeld nicht mehr von der ursprünglichen Helligkeit oder Dunkelheit. Dieselbe lässt sich aber gleichfalls wieder herstellen, wenn man den Analysator um denselben Winkel dreht, um welchen die Ebene des polarisirten Strahls durch die Lösung gedreht wurde. Dieser Winkel lässt sich messen; er wird den Berechnungen zu Grunde gelegt.

B. Die Polarimeter. Das Princip kann in verschiedener Weise zur Ausführung gelangen; an Stelle der Apparate älterer Construction sind aber fast allein die Halbschattenapparate getreten. Diese sind empfindlicher als andere und schonen das Auge. Sie sind so eingerichtet, dass der Polarisator neben einander liegende und durch eine Senkrechte von einander getrennte Bündel polarisirten Lichtes liefert, deren Schwingungsebenen um einen kleinen Winkel (von $3-5^0$) zu einander geneigt sind. Stellt man den Analysator mit seiner Schwingungsebene rechtwinklig zur Schwingungsebene des einen Lichtbündels, so erscheint das diesem Lichtbündel entsprechende Gesichtsfeld dunkel, das andere hell wie in Fig. 37. Ebenso kann man durch eine geeignete Drehung des Analysators um seine Achse das vorher helle Gesichtsfeld dunkel und das vorher dunkle Gesichtsfeld hell erscheinen lassen. Bei einer Mittelstellung des Analysators, bei welcher seine Schwingungsebene rechtwinklig zu stehen kommt zu der Linie, welche den Winkel beider Schwingungsebenen des Polarisators halbirt, erscheint das ganze Gesichtsfeld gleichmässig schattig (Halbschatten, pénombre). Auf Halbschatten wird bei der Nullstellung und bei der Bestimmung der Drehung eingestellt.

Fig. 37.



Man hat Halbschattenapparate angefertigt, bei welchen das Gesichtsfeld durch eine Senkrechte in zwei Hälften getheilt wird, bei welchen also ausserhalb der Nullstellung die eine Hälfte des Sehfeldes dunkel, die andere hell ist (zweitheiliges Sehfeld). Bei andern schneiden zwei Senkrechte einen Streifen aus der Mitte des Sehfeldes aus, und es erscheinen dann ausserhalb der Nullstellung die beiden seitlichen Felder dunkel und das mittlere hell, oder die beiden äusseren hell und das mittlere dunkel, innerhalb der Nullstellung das ganze Gesichtsfeld gleichmässig halbdunkel (dreitheiliges Sehfeld). Die seitlichen

Felder müssen ganz in demselben Grade dunkel oder hell erscheinen wenn der Apparat richtig construirt ist. Die Polarimeter mit dreitheiligem Gesichtsfeld erleichtern die Einstellung auf Halbschatten gegenüber denen mit zweitheiligem Gesichtsfeld und geben deshalb genauere Resultate.

Der Halbschatten kann auf verschiedene Weise hervorgebracht werden.

1. Laurent[1]) hat für das zweitheilige Sehfeld zwischen dem Polarisator und dem Analysator, also vom Beobachter aus vor dem Polarisator und zwar in der Nähe desselben eine dünne parallel zur Achse geschliffene Quarzplatte eingeschaltet. Liegt die Schwingungsebene des polarisirten Lichtes parallel zur (senkrecht stehenden) Achse der Platte, so erscheinen bei jeder Stellung des Analysators die beiden Hälften des Sehfeldes gleich dunkel oder hell; zur Herstellung des Halbschattens hat man den Polarisator mit seiner Hülse so um seine Achse zu drehen dass die Schwingungsebene mit der Achse der Platte einen kleinen Winkel bildet. Die Grösse des Winkels kann je nach Bedürfniss gewählt werden. Um das dreitheilige Gesichtsfeld zu erhalten, hat man auf der dem Beobachter zugekehrten Seite eines polarisirenden (Glan'schen) Prismas einen schmalen senkrechten Streifen einer Laurent'schen Platte, deren Achse mit der Schwingungsebene des Polarisators einen kleinen Winkel bildet, so angebracht, dass zu beiden Seiten desselben der Polarisator gesehen wird. Es wird so sicher die Bedingung erfüllt, dass beide seitlichen Felder ganz die gleiche Helligkeit oder Verdunkelung aufweisen.

2. Bei dem von Lippich[2]) entworfenen Apparat mit zweitheiligem Gesichtsfeld befindet sich vor dem das ganze Gesichtsfeld ausfüllenden polarisirenden Nicol'schen Prisma ein zweites nur halb so breites, welches seine scharfe Kante dem Beobachter zukehrt; sie erscheint als eine, das Gesichtsfeld von oben nach unten halbirende Linie. Fallen die Schwingungsebenen beider in einander, so ist bei jedweder Stellung des Analysators das ganze Gesichtsfeld gleichmässig dunkel oder hell. Das Ganzprisma lässt sich aber mit seiner Hülse um seine Achse drehen, während das Halbprisma feststeht. Bei einer solchen Stellung ist Halbschatten vorhanden; auch hier kann die Grösse des Winkels verändert werden. — An diesem Apparat hat Lippich[3]) die werthvolle Verbesserung der Theilung des Gesichtsfeldes in drei Theile überhaupt zuerst eingeführt, dadurch, dass er zwei unter einander ganz gleiche

---

[1]) Laurent, bei Landolt, Das optische Drehungsvermögen etc. Braunschweig, 2. Aufl. 1898. 308.

[2]) F. Lippich, Lotos 1882. 47; Sitzungsber. d. k. Akad. d. Wissensch. zu Wien, II. Abtheil. **91.** 1059. 1885; Landolt, a. a. O. 314.

[3]) F. Lippich. Ztschr. f. Instrumentenkunde **14.** 326; Ztschr. f. analyt. Ch. **34.** 584. 1895; Sitzungsber. d. k. Akad. d. Wissensch. zu Wien, Mathem.-naturwissensch. Cl. **105.** Abthlg. II. a. 317. 1896; Landolt, a. a. O. 317.

kleine Prismen so vor dem Ganzprisma aufstellte, dass von diesem noch ein mittlerer Streifen sichtbar bleibt. Die Apparate von Lippich gehen auch unter dem Namen Landolt-Lippich, wo Landolt die Form des Gestells angegeben hat.

3. Cornu[1]) hat das polarisirende Nicol der Länge nach in zwei Hälften geschnitten, von jeder Hälfte ein keilförmiges Stück in einem Winkel von $2^1/_2{}^0$ abgeschliffen und die Hälften darnach wieder an einander gefügt. Die Schwingungsebene der Hälften bilden sonach mit einander einen feststehenden Winkel von 5^0. Jellett[1]) schaltete vor dem Polarisator einen in ähnlicher Weise hergestellten Hülfsapparat ein. — Die Firma Schmidt und Haensch hat ein ähnliches Princip wie Cornu zur Herstellung des dreitheiligen Gesichtsfeldes befolgt. Die eine Hälfte, aus welcher das polarisirende (Glan'sche) Prisma zusammengefügt wird, ist der Länge nach in drei Theile zerschnitten; der mittlere Theil wird auf beiden Längsseiten um einen kleinen Winkel abgeschliffen, so dass die Schliffflächen einander parallel sind, und wieder zwischen den beiden seitlichen Stücken befestigt. Die Schwingungsebene des Mittelstücks bildet mit den Schwingungsebenen der beiden seitlichen Stücke den gleichen Winkel. — Apparate dieser Art mit zwei- oder dreitheiligem Gesichtsfeld sind unter der vom Fabrikanten gewählten Bezeichnung System Jellett-Cornu zu verstehen.

Von den Halbschattenapparaten sind die nach Lippich hergestellten die empfindlichsten. Das Spectropolarimeter von v. Fleischl findet unten Erwähnung.

Apparate, welche allgemeinen Zwecken dienen sollen, sind mit einer zugleich mit dem Analysator drehbaren Scheibe versehen, auf welcher eine Kreisbogentheilung mit Unterabtheilungen (in Minuten oder, was gebräuchlicher ist, nach dem decimalen System) aufgetragen ist. Die Scheibe bewegt sich an einem feststehenden Nonius vorüber. Je empfindlicher das Instrument ist, bis zu desto kleineren Theilen sollte die Theilung gehen.

An den Lippich'schen Apparaten von Schmidt und Haensch lassen sich mittelst des Nonius noch 0.01^0 ablesen. Vom früheren Universitäts-Mechaniker Rothe in Prag hergestellte Lippich'sche Apparate gestatteten an dem Kreis mit dem ungewöhnlich grossen Durchmesser von 23.5 cm noch $0{,}005^0$ abzulesen, und bei noch kleinerer Theilung wäre eine Bestimmung noch geringerer Grössen möglich gewesen. Eine Vergrösserung des Kreises und eine feinere Theilung erhöht aber den Preis solcher Apparate erheblich.

Bei den Halbschattenapparaten fällt im leeren Instrument der Nullpunkt nicht mit dem Nullpunkt des Kreises zusammen. Er muss am Nonius abgelesen werden. Schaltet man eine Lösung mit optisch

---

1) Cornu, Jellett, bei Landolt, a. a. O. 407.

activer Substanz ein, so erscheint die eine Gesichtshälfte dunkler als die andere. Man dreht dann die Scheibe vorsichtig von oben nach der dunkleren Seite zuerst mit der Hand soweit, bis annähernd gleiche Verdunkelung des Gesichtsfelds eingetreten ist und bewirkt die Einstellung auf vollständigen Halbschatten, je nach der Construction des Apparats, mittelst einer Mikrometerschraube oder mittelst Triebs oder mittelst einer ähnlichen Vorrichtung. Man liest wieder die Stellung des Kreises gegen den Nonius ab und subtrahirt von diesem Werthe den bei dem Nullpunkt des Instruments abgelesenen. Die Differenz ergiebt den Grad der Drehung für die untersuchte Lösung.

An den Apparaten von Laurent und von Lippich kann man den Winkel, welchen die Schwingungsebenen des beweglichen Prismas im Polarisator mit der Achse der Quarzplatte oder der Schwingungsebene des kleinen Prismas bildet, beliebig wählen; es dient dazu ein an der Hülse des Prismas befestigter Hebel, welcher sich vor einem Stück Kreisbogen verschieben lässt. Je grösser der Winkel ist, desto heller erscheint der Halbschatten und um so unsicherer wird die Einstellung auf den Nullpunkt. Eine geeignete Grösse dieses Winkels ist die von 3°. Trübe oder stark gefärbte Flüssigkeiten nehmen viel Licht weg und erschweren die Einstellung. Durch eine Vergrösserung des Winkels wird dabei Nichts gebessert; zweckmässiger ist es, wo es angeht, die Flüssigkeiten zu klären oder zu entfärben.

Für die Einstellung auf den Nullpunkt richtet man das im vorderen Theil des Apparats befindliche Fernrohr so, dass man die senkrechte Trennungslinie im Gesichtsfeld scharf sieht; dasselbe hat auch zu geschehen, wenn man die polarisirende Flüssigkeit in den Apparat eingeschaltet hat. Ohne diese Maassregel werden die Einstellungen falsch. Wenn man darauf durch Drehen der Scheibe mit der Hand nahezu Halbschatten hergestellt hat, fixirt man die Scheibe mittelst einer am Apparat befindlichen Bremse und vollendet die Einstellung mit der Mikrometerschraube oder dem Trieb in der Art, dass man sie gerade nur so weit bewegt, bis die Verdunkelung des ganzen Gesichtsfelds erreicht ist. Darüber hinaus kommt dann eine Zone, welche von der Breite des Winkels zwischen den Schwingungsebenen der polarisirenden Bestandtheile abhängt, innerhalb welcher sich die Helligkeit des Gesichtsfeldes nicht ändert. Für genauere Bestimmungen stellt man auf den Halbschatten einmal von rechts und einmal von links ein und nimmt das Mittel von je zwei Einstellungen.

Die Drehungsrichtung wird bestimmt durch die Seite, nach welcher man den Kreis zur Erreichung der Nullpunktstellung drehen muss. Rechts ist die Drehungsrichtung, wenn man den Kreis vom Beobachter aus von oben nach rechts gedreht hat; der Nullpunkt des Kreises steht dann, vom Centrum der Scheibe aus gesehen, rechts vom (festen) Nullpunkt des Nonius, und umgekehrt. Bei leerem Apparat fällt der Nullpunkt nicht mit dem Nullpunkt des Kreises zusammen; der Nullpunkt des Apparates liegt in dem angegebenen Sinne links, wenn man den Hebel des beweglichen Prismas im Polarisator nach links bewegt hat, und umgekehrt, und die Abweichung vom Nullpunkt des Kreises beträgt annähernd die Hälfte des Winkels, um welchen man den Hebel auf seinem Kreisbogen verschoben hat.

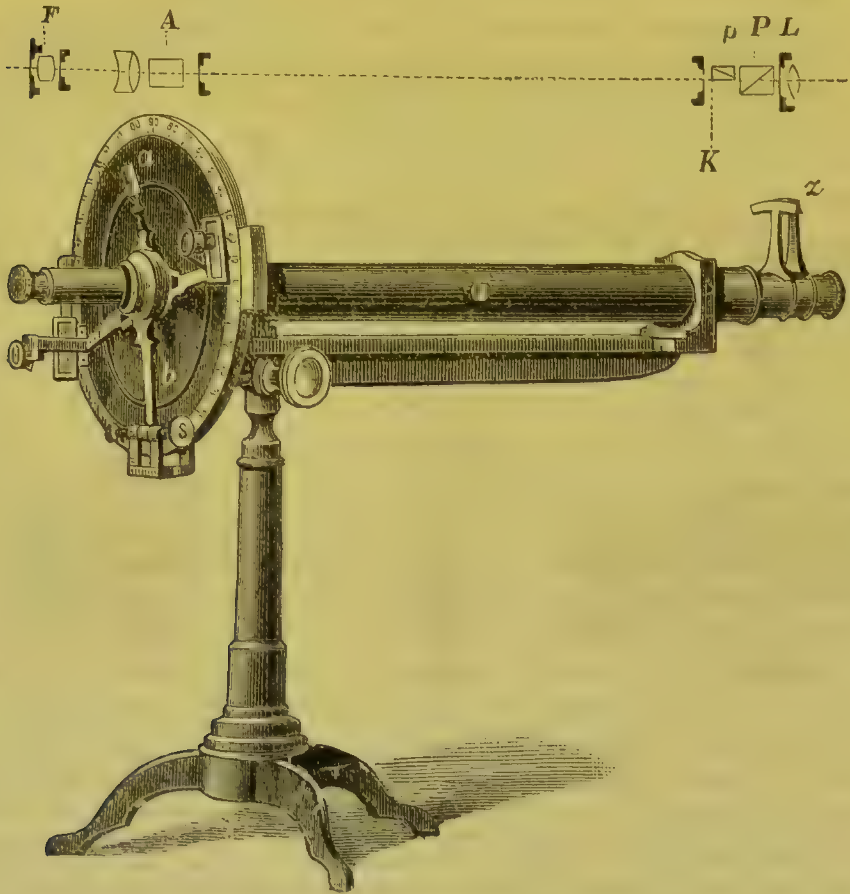
Bei der Ablesung des Drehungswinkels zählt man vom Nullpunkt des Kreises in der Richtung zum Nullpunkt des Nonius die ganzen Grade und die grossen auf dem Kreis aufgezeichneten Bruchtheile (z. B. Viertel) des letzten nicht vollen Grades ab, und sucht dann in der gleichen Richtung denjenigen Strich des Nonius auf, welcher mit einem Kreisstrich genau zusammenfällt, zählt dann die Striche vom Nullpunkt des Nonius bis zu diesem, multiplicirt ihre Zahl mit dem durch die Theilung des Nonius bedingten Factor und zählt das Produkt den vorher abgelesenen ganzen Graden und den Bruchtheilen des letzten Grades hinzu. Für die Bestimmung der Grösse, um welche eine Flüssigkeit gedreht hat, ist der

Nullpunkt des leeren Apparats von dem beobachteten Winkel abzuziehen; wäre der Nullpunkt des Apparates = — 1,60⁰ gewesen und hätte die beobachtete Drehung 0,25⁰ betragen, so ergäbe sich für die gesuchte Grösse 0,25⁰ — (— 1,60⁰) = 0,25⁰ + 1,60 = 1,85⁰.

Die Beobachtung erfordert monochromatisches Licht. Die Lichtquelle darf während der einzelnen Beobachtungen ihre Lage zum Apparat nicht ändern. — Halbschattenapparate mit Compensation durch einen Quarzkeil sind nur für besondere Zwecke (Bestimmung von Zucker) verwendbar.

2. Die Saccharimeter unterscheiden sich dadurch von den Polarimetern (auch Halbschattenapparaten) mit Kreisbogentheilung, dass an

Fig. 38.



dem Kreis oder an einer kürzeren linearen Skala der Procentgehalt der Zuckerlösung direkt abgelesen werden kann, bei Harn der Procentgehalt an Traubenzucker.

C. Einzelne Apparate. Aus den zahlreichen Formen der Polarimeter gebe ich im Folgenden einige für medicinisch-chemische Zwecke geeignete.

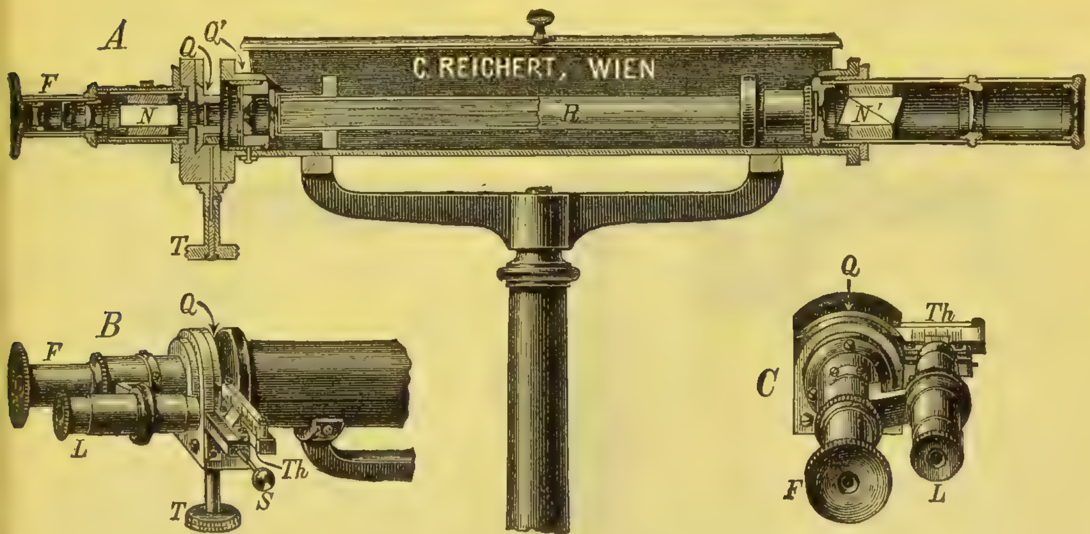
1. Beistehende Abbildung veranschaulicht einen Halbschattenapparat nach Lippich, mit zweitheiligem Gesichtsfeld, zugleich mit der Anordnung der optischen Bestandtheile, diese von oben gesehen. P bezeichnet das mit seiner Hülse

durch den Hebel z drehbare grosse Prisma, p das feststehende Halbprisma mit der scharfen Kante K, die zwei Bestandtheile des Polarisators. L ist eine Sammellinse, A der Analysator und F das (reflexfreie) Ocular des Fernrohrs. — Einen Apparat dieser Art, mit zwei- oder dreitheiligem Gesichtsfeld, Einstellung mit Nonius und Trieb bis nur zu 1 Min. (= 0,017⁰) liefert Reichert in Wien zum Preise von 260 fl. ö. W. — Schmidt u. Haensch[1]) in Berlin stellen ein solches Polarimeter mit einem anderen von Landolt[2]) entworfenen Gestell her, bei welchem auf Halbschatten blos durch grobe Bewegung mit der Hand eingestellt wird. Einstellung bis auf 0,01⁰, dreitheiliges Gesichtsfeld, Preis 350 Mk.

2. Im Wesentlichen dieselbe Einrichtung wie 1. hat das Polarimeter von Laurent, nur enthält es an Stelle des halben Prismas p die Quarzplatte. — Von Schmidt & Haensch, Einstellung mit Trieb bis auf 1 Min., mit zweitheiligem Gesichtsfeld 275 Mk., mit dreitheiligem 375 Mk.

3. Saccharimeter nach Cornu (von Reichert bezeichnet nach Jellett-Cornu), mit zweitheiligem Gesichtsfeld und mit Quarzkeilcompensation. Der Polarisator N' (in A) besteht aus einem Cornu'schen Prisma, der Analysator N (in A) steht fest. Bei dem Gebrauch des Apparats stellt man das Fernrohr F

Fig. 39.



(in A) scharf auf die senkrechte Trennungslinie des Gesichtsfelds ein und stellt mittelst des Triebs T Halbschatten her. Es muss dann der Nullpunkt des Nonius mit dem Nullpunkt der Theilung Th (in B u. C) zusammenfallen. Ist dies nicht der Fall, so kann man diese Lage mittelst des Schlüssels S (in B) herstellen, kleine Abweichungen auch durch eine Aenderung der horizontalen Lage des Apparats zur Flamme corrigiren. Legt man ein Rohr mit zuckerhaltigem Harn in den Apparat, so erscheint die eine Hälfte des Sehfelds nicht blos dunkler, sondern auch in anderer Farbe. Man bringt wieder die Trennungslinie scharf zu Gesicht und stellt mittelst des Triebs dann Halbschatten (und zugleich Farbengleichheit, ein mattes Gelbbraun) her. Der Trieb verschiebt einen linksdrehenden Quarzkeil, welcher die durch den Zucker bewirkte Rechtsdrehung compensirt. An der Theilung lassen sich mittelst einer rechts vom Fernrohr angebrachten Lupe (L in B u. C) noch

[1]) C. Reichert, Wien VIII, Bennogasse 24—26. — F. Schmidt & Haensch, Berlin S., Stallschreiberstr. 4.

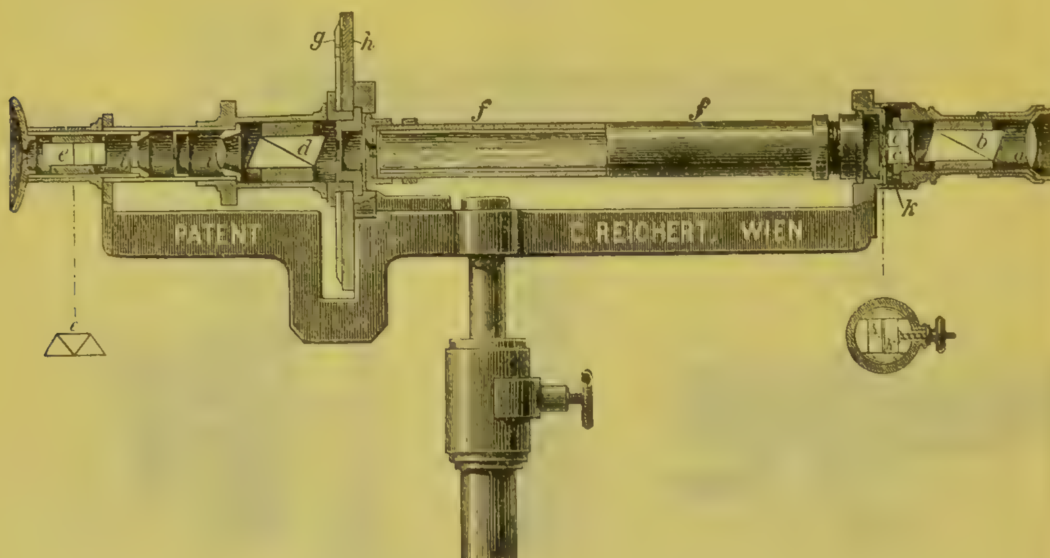
[2]) H. Landolt, Berichte d. chem. Gesellsch. **28**. 3102. 1895. — Chem. Centralbl. 1896. **1**. 346. Mit Abbildung. — Das optische Drehungsvermögen, 2. Aufl. 320.

Zehntelprocente Zucker ablesen. Der Apparat hat vor anderen den Vorzug, dass man zur Beleuchtung nicht monochromatisches, sondern gewöhnliches Licht braucht, wozu sich eine leuchtende Gasflamme, oder Auer'sches Licht oder eine Petroleumlampe verwenden lassen. Sehr helles Licht verdient den Vorzug. Trotz des kleinen Sehfelds leistet der Apparat das Versprochene. Er wird von Schmidt & Haensch sowie von Reichert für 200 Mk. geliefert.

4. **Saccharimeter „nach Mitscherlich"**, hat mit dem Apparat von Mitscherlich nur das Gestell gemein, enthält (bei Reichert) ein Glan'sches Prisma mit einer Laurent'schen Quarzplatte (S. 669). Einstellung auf einem Kreis mittelst eines durch einen Hebel direct beweglichen Nonius. Einstellung auf 0,1%. Erfordert monochromatisches Licht. Mit zweitheiligem Gesichtsfeld von Schmidt & Haensch für 120 Mk., mit zwei- oder dreitheiligem Gesichtsfeld von Reichert zu demselben Preise zu beziehen.

5. Von besonderer Einrichtung ist ein weiteres Saccharimeter, das **Spectro-Polarimeter** von E. v. Fleischl[1]) (Fig. 40). Es enthält zwischen zwei Nicols (b u. d) eingeschaltet zwei das polarisirte Licht in entgegengesetzter Richtung

Fig. 40.



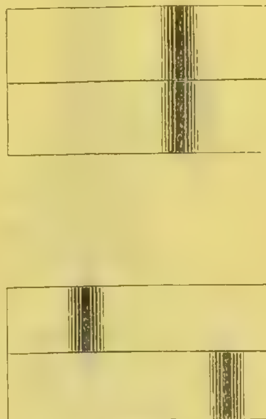
drehende gleich dicke Quarzplatten, welche, in gerader Linie an einander stossend, horizontal übereinander liegen (c u. c_1). Sie nehmen das aus dem Polarisator (b) austretende Licht auf und drehen die Schwingungsebene desselben, die eine Platte rechts, die andere links, aber, da sie gleiche Dicke besitzen, gleichartiges Licht jede um denselben Winkel. Der Quarz dreht jedoch die Schwingungsebene des Lichts verschiedener Wellenlängen nicht um denselben Winkel, sondern das violette stärker als das rothe (Rotationsdispersion). Diejenigen Strahlen, deren Schwingungsebene nach dem Durchgang durch die Quarzplatten rechtwinklig zur Schwingungsebene des in die Quarzplatte getretenen Lichts steht, werden durch den Analysator, dessen Hauptschnitt dem des Polarisators parallel gestellt ist, ausgelöscht. Welches Licht es ist, dessen Schwingungsebene um 90° gedreht wird, hängt von der Dicke der Quarzplatte ab; sie ist so gewählt (7,85 mm), dass das an das Gelb grenzende Grün zum Verschwinden gebracht wird. Betrachtet

[1]) E. v. Fleischl, Wiener med. Wochenschr. 20. 21. 1885; Med. Jahrb. d. k. k. Gesellsch. der Aerzte in Wien 1885. 415.

man das durch den Analysator austretende Licht durch das Spectroskop mit gerader Durchsicht (e), welches vor dem Ocular in das Fernrohr eingeschaltet ist, so sieht man bei völlig paralleler Stellung der Nicols zwei als eins erscheinende, nur durch die horizontale Trennungslinie der Quarzplatten getheilte Spectren über einander, in welchen jener Theil des Grün fehlt. An Stelle desselben nimmt man einen schmalen, sich in gleicher Flucht über beide Spectren erstreckenden schwarzen Streifen wahr (oberer Theil der Fig. 41). Ganz knapp vor der Doppelquarzplatte befindet sich der Spectralspalt (k), dem durch eine einseitig bewegliche Platte mittelst einer Stellschraube die erforderliche Weite ertheilt werden kann.

Wird nun zwischen die beiden Nicols eine Zuckerlösung gebracht, so wird die Ebene des polarisirten Lichts, welches aus der Quarzdoppelplatte austritt, nach rechts gedreht, für das aus der rechts drehenden Platte kommende Licht in dieser Richtung weiter, für das aus der links drehenden Platte austretende in entgegengesetzter Richtung; es stellt sich jetzt in der einen Gesichtshälfte die Schwingungsebene des mehr nach Blau, in der andern die des mehr nach Roth zu gelegenen Lichts rechtwinklig zum Hauptschnitt des Analysators und es erscheinen deshalb im Spectrum links und rechts von der Mittellinie zwei schwarze Streifen (unterer Theil der Fig. 41). Dreht man den Analysator gleichfalls nach rechts, so rücken die Streifen einander näher und bilden schliesslich wieder wie anfangs einen einzigen Streifen, wenn der Analysator um denselben Winkel gedreht wurde, um welchen die Zuckerlösung die Ebene des polarisirten Lichts abgelenkt hat. Diesen Winkel kann man messen. Der Analysator ist in eine getheilte Scheibe (h) gefasst, durch deren Drehung der Analysator um seine Achse bewegt wird; vor der Scheibe befindet sich ein feststehender Zeiger (g). Länge des Rohrs (177,2 mm) und Abstand der Theilstriche auf der Scheibe sind so abgepasst, dass ein ganzer Theilstrich 1 g Zucker in 100 cc anzeigt; es kann noch 0,1 g Zucker abgelesen werden. Die Bestimmungen sind auf 0,1—0,2 g genau. Der Apparat gestattet, wie ersichtlich, die Untersuchung gelber und rother Flüssigkeiten, wie der Harn eine solche darstellt.

Fig. 41.



Der Gebrauch des Polarimeters ist einfach. Man stellt zuerst das Fernrohr, dessen Ocular gradlinig verschoben werden kann, auf die Trennungslinie der Platten (und den Spectralspalt) ein. Alsdann dreht man die Kreisscheibe bei leerer oder mit Wasser gefüllter Röhre (f) so, dass die zwei schwarzen Linien in eine Flucht fallen, und liest den Stand des Zeigers an der Kreistheilung ab; bei richtiger Justirung des Instruments zeigt er Null. Die Scheibe hat einen gekerbten Rand, an welcher sie mit der Hand gefasst wird. Es wird darauf die mit Harn gefüllte Röhre eingelegt, die Scheibe so weit nach rechts gedreht, dass die schwarzen Streifen wieder in einen einzigen zusammenfallen, und die zweite Ablesung vorgenommen. Die Differenz der ersten von dieser ergiebt den Zuckergehalt. Für beide Beobachtungen hat man dem Spectralspalt die geeignete Weite zu ertheilen. Als Lichtquelle dient eine leuchtende Gasflamme (Rundbrenner) oder die Flamme einer Petroleumlampe. — Das Spectro-Polarimeter wird von Reichert zum Preise von 200 Mk. geliefert.

D. Hilfsapparate.

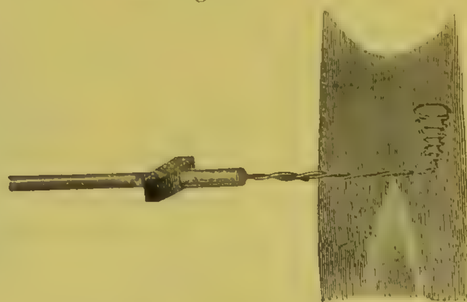
1. Zur Beleuchtung mit monochromatischem Licht dient eine Natriumflamme von möglichst grosser Helligkeit; sie wird durch eine stark blasende Gaslampe hervorgebracht. Die in Fig. 42 und 43 abgebildete einfache Natriumlampe entspricht den erforderlichen Eigenschaften.

Der leuchtende Theil der Flamme darf nicht breit sein, weil, wenn in breiter Flamme die Stelle der stärksten Lichtintensität ihren Ort wechselt, das Instrument während der Beobachtung das hellste Licht von verschiedenen Punkten aus empfängt und dadurch die Orientirung des Polarimeters zur Lichtquelle während der Beobachtung eine andere wird, was, wie bemerkt, nicht der Fall sein darf. Man verdeckt daher die Flamme mit einer Blende (Fig. 42) und stellt das Loch in derselben vor den am Hellsten leuchtenden Theil der Flamme. Die Lampe muss ferner mit einem für eine grössere Reihe von Einstellungen ausreichenden Vorrath an Natriumsalz beschickt sein; denn ist man genöthigt, während der Beobachtungen aufs Neue Salz zuzuführen, so ändert sich leicht die Orientirung des Instruments zur Flamme und die bis dahin gemachten Ablesungen sind unbrauchbar. Es ist ferner zu beachten, dass die Flamme um so heller ist, je dünner der Platindraht, von welchem das Salz verdampft. Beide Bedingungen werden durch die in Fig. 43 in natürlicher Grösse abgebildete Vorrichtung erfüllt. Der Korb, welcher den Salzvorrath aufnehmen soll, ist aus spiralig aufgewundenem Platindraht angefertigt, dessen Enden zusammengedreht sind und in dem Halter befestigt werden. Solche Körbe kann man sich selbst mittelst eines konisch zugespitzten Eisenstäbchens anfertigen, in dessen Konus man sich von einem Mechaniker ein Schraubengewinde hat schneiden lassen. Der Halter besteht aus einem starken (Platin-) Draht, der ein Stück weit der Länge nach aufgeschnitten ist; in den Spalt steckt man die Enden des dünnen Platindrahts und drückt den Spalt mit dem Schieber wieder zusammen. Der Korb wird in den leuchtenden Theil der Flamme gebracht, aber nicht in ihre Achse; das Salz schmilzt und fliesst in den gewundenen Draht herab. Am Hellsten ist die Flamme, wenn sich die Stelle, von welcher das Salz verdampft, nicht direkt über der Spitze des nicht leuchtenden Kegels, sondern etwas vor (oder hinter) derselben im nicht leuchtenden Mantel befindet.

Fig. 42.



Fig. 43.



Zum Erzeugen des Natriumlichts kann man Carbonat, Chlorid oder Sulphat verwenden: das Salz wird vorher geschmolzen, grob zerkleinert, und vor der Benutzung der Lampe im Korb eingeschmolzen. Das hellste Licht giebt nach von Fleischl Bromnatrium, hat aber den Nachtheil, dass es schnell verdampft. Pribram empfiehlt ein geschmolzenes Gemeng von gleichen Theilen Chlornatrium und Bromnatrium. Dupont[1]) ein ebensolches Gemeng von ungefähr gleichen

---

1) E. v. Fleischl, Ztschr. f. physik. Ch. **5**. 88. — R. Pribram, Ztschr. f. anal. Ch. **34**. 167. — F Dupont, Bull. de la Soc. chim. [3] **17**. 584.

Molekülen Chlornatrium und normalem Natriumphosphat. — Farbenfilter zur Beseitigung beigemengten andersfarbigen Lichts, wie sie von Lippich sowie von Landolt[1]) entworfen wurden, sind für die gewöhnlichen Zwecke der Polarimetrie entbehrlich. Sie sind zudem lichtschwach.

Als Träger des Natronsalzes hat Král langfasrigen Asbest oder Streifen von Asbestpappe vorgeschlagen, welche nach dem Tränken mit Kochsalzlösung getrocknet und deren zwei von entgegengesetzten Seiten in die Flamme vorgeschoben werden. Du Bois[2]) fertigt 4 mm starke und 12—15 cm lange Stifte aus Natriumbicarbonat, Bromnatrium und Traganth, welche nach und nach in die Flamme geschoben werden.

2. Die Polarimeterrohre. Die Flüssigkeit, welche untersucht werden soll, wird in Glasrohre mit abgeschliffenen Enden gefüllt. Sie sind von einem Metallrohr umgeben und können durch Glasplatten geschlossen werden, welche mittelst in der Mitte durchbrochener, auf das Metallrohr aufschraubbarer Kappen (Ueberwurfschrauben) beiderseits an das Glasrohr angepresst werden. Zwischen Glasplatte und Kappe legt man einen Ring aus weichem Leder. Für quantitative Bestimmungen müssen die Rohre eine bestimmte, genau bekannte Länge besitzen (1, 2 und 3 Decimeter). Ihre Enden müssen rechtwinklig zur Achse abgeschliffen und ebenso die Glasplatten planparallel sein.

Die Platten dürfen nicht zu scharf an die Rohre angepresst werden, weil sie nach Scheibler[3]) sonst Doppelbrechung und farbige Polarisation zeigen. Man erkennt das daran, dass sich beim Drehen des Rohrs um seine Achse das Gesichtsfeld des Halbschattenapparates aufhellt, von dunklen verwaschenen Streifen durchzogen wird und man bei keiner Lage des Rohrs eine ganz gleichmässige Verdunkelung des Gesichtsfelds erhält.

Sind die äusseren Flächen der aufgelegten Deckplatten einander nicht parallel, so rückt beim Drehen des Rohrs um seine Achse das Gesichtsfeld zur Seite oder nach oben. Als nicht planparallel kann man die Deckgläser nach Frič[4]) auch daran erkennen, dass die zwei Bilder einer Flamme auf der vorderen und hinteren Seite beim Drehen ihre gegenseitige Lage ändern.

Wenn man die Kreistheilung in Kreisbogengrade beibehalten, aber die Grade als Zuckerprocente bezeichnen will, so muss das Polarimeterrohr für Traubenzucker eine Länge von 190,5 mm besitzen, statt 100 mm. Die gebräuchliche Länge von 186,6 (richtig 186,7) mm entspricht der spec. Drehung $[\alpha]D = 53{,}0$, statt, wie es richtig ist 52,5°.

Bei der Untersuchung von Substanzen, deren Polarisation, wie die des Fruchtzuckers, stark von der Temperatur beeinflusst wird, muss die Lösung auf eine bestimmte Temperatur gebracht und auf dieser erhalten werden. Das lässt sich erreichen, indem man das Rohr von Wasser von bestimmter Temperatur umfliessen lässt.

E. Der Drehungswinkel wird bei gleichbleibender Concentration der Lösung bestimmt von der Länge des Rohrs, von der Art des Lichts, bei einigen Substanzen (Fruchtzucker, Milchzucker) von der

---

[1]) Lippich, Ztschr. f. Instrumentenkunde **13**. 340. 1892. — Landolt, Berichte d. chem. Gesellsch. **27**. 2872. 1894; das optische Drehungsvermögen, 2. Aufl. 359 u. 387.

[2]) H. Král, Chemikerztg. **16**. 49; Ztschr. f. analyt. Ch. **32**. 206. — H. E. J. G. du Bois, Ztschr. f. Instrumentenkunde **12**. 165. 1891; Ztschr. f. anal. Ch. **32**. 333.

[3]) Scheibler, Ber. d. chem. Gesellsch. **1**. 268. 1868.

[4]) J. Frič, Ztschr. f. anal. Ch. **33**. 351.

Temperatur, und, was bei der Untersuchung des Harns nicht in Betracht kommt, vom Alter der Lösung und von der Art des Lösungsmittels. Er ist ferner abhängig von dem Gehalt der Lösung an activer Substanz.

Der Drehungswinkel ist direkt proportional der Länge des Rohrs. Als Einheit für diese gilt 1 Decimeter. Man bezeichnet den bei dieser Einheit beobachteten Drehungswinkel mit α. und setzt, bei Verwendung von Rohren anderer Länge, α die in Decimetern ausgedrückte Rohrlänge als Multiplicator vor: 2 α bei 2 Decimeter, 0,5 α bei 0.5 Decimeter, oder, allgemein ausgedrückt, l α, wo l die Länge des Rohrs in Decimetern bedeutet.

Giebt man den beobachteten Winkel, w, an, so hat man dann noch die Richtung der Drehung, wenn die Lösung **links** dreht, durch — w zu bezeichnen, z. B. $2\alpha = -w^0$; bei Rechtsdrehung entfällt das positive Vorzeichen vor w.

Der Winkel wird kleiner, je mehr das verwendete Licht nach dem spectralen Roth, grösser, je mehr es nach Blau hin liegt. Es ist daher nöthig, die Farbe des Lichts zu bezeichnen, bei welcher die Beobachtung vorgenommen wurde, und das geschieht in der Weise, dass man α die entsprechende Spectrallinie hinzuschreibt; für Beobachtungen im Natriumlicht würde die Bezeichnung α_D sein.

Ist die Temperatur der untersuchten Lösung anzugeben, so hat man α den betreffenden Grad hinzuzuschreiben; es bedeutet also α^{20} den bei einer Temperatur der Lösung von 20° gemessenen Winkel.

Der Gehalt einer Lösung kann angegeben werden durch die Gewichtsmenge der in 100 Gewichtstheilen enthaltenen Substanz (Gewichtsprocente), oder durch die Anzahl Gramme Substanz, welche in 100 cc der Lösung enthalten sind (Volumprocente, Concentration). Die Gewichtsprocente drückt man durch p aus, die Concentration durch c. Kennt man die Dichte d einer Lösung, so lässt sich die Concentration in Gewichtsprocente umrechnen, und umgekehrt; denn $c = pd$. In streng wissenschaftlichen Untersuchungen wird die Dichte auf die von Wasser von 4° bezogen; man schreibt dann, wenn bei 20° beobachtet wurde, die auf 4° reducirte Grösse α_4^{20}. Eine dritte, wenig gebräuchliche Art, den Gehalt einer Lösung an activer Substanz zu bezeichnen, besteht darin, anzugeben, wieviel an inactivem Lösungsmittel (in Gramm bei Wasser in Cubikcentimeter) die Lösung enthält; der Procentgehalt an inactivem Lösungsmittel wird durch q ausgedrückt.

Man kann nun einen beobachteten Drehungswinkel auf die Procenteinheit zurückführen, indem man ihn durch die Länge des Rohrs l und durch die Concentration $c = pd$ dividirt. Man erfährt so, wie gross der Winkel wäre, um welchen die Polarisationsebene bei Untersuchung einer einprocentigen Lösung im 1-Decimeterrohr abgelenkt worden wäre. Die

für die einprocentige Lösung beobachtete Grösse, mit 100 multiplicirt, ergiebt die specifische Drehung oder die Drehungsconstante. Man bezeichnet diesen berechneten Winkel mit $[\alpha]$. Es ist also

$$[\alpha] = \frac{100\,\alpha}{l\,c} = \frac{100\,\alpha}{l\,p\,d},$$

ein Werth, welcher constant oder mit der Concentration der untersuchten Lösung variabel sein kann. Ist α der Concentration der Lösung direkt proportional, oder der Einfluss der Concentration auf α unbekannt, so nimmt der Ausdruck für $[\alpha]$ die einfache Form $[\alpha]_D = W^0$, wo W = den berechneten Kreisbogengraden. Findet jedoch diese Proportionalität zwischen α und der Concentration nicht statt, so ist der Einfluss der Concentration auf α gesondert zu bestimmen und in der Formel für $[\alpha]$ ersichtlich zu machen. Dies kann, je nach dem Fall, durch einen zwei-, oder durch einen dreigliederigen Ausdruck geschehen, z. B.

$$[\alpha]_D^{20} = -(91{,}90 + 0{,}111\,p) \text{ oder } = -113{,}96 + 0{,}258\,q.$$
$$[\alpha]_D = 52{,}50 + 0{,}018796\,p + 0{,}00051682\,p^2.$$

Auch lässt sich der Einfluss der Temperatur auf die specifische Drehung in der Formel angeben, wie

$$[\alpha]_D^t = -(99{,}56 + 0{,}139\,p - 0{,}56\,t).$$

Wie ersichtlich, ist es nicht schwer, α für eine Lösung von bestimmtem Gehalt zu berechnen; man hat dazu nur die bekannten Werthe für p (oder c) in die Gleichung einzusetzen. Dagegen erfordert die Berechnung des Gehalts aus dem beobachteten Winkel α eine umständliche Rechnung.

Für solche Rechnungen giebt Landolt[1]) eine Anleitung. In den meisten Fällen ist sie bei der Untersuchung des Harns entbehrlich; es macht keinen grossen Unterschied, ob man für eine 5 proc. Traubenzuckerlösung die spec. Drehung zu 52,5, wie für eine 1 procentige, oder, wie es richtig wäre, zu 52,6 annimmt. — Ist die spec. Drehung nach Gewichtsprocenten angegeben, und will man den Gehalt für 100 cc wissen, so hat man, wo es darauf ankommt, die berechnete Zahl noch mit der Dichte zu multipliciren.

Sind Soleil-Ventzke'sche Saccharimetergrade in Kreisbogengrade umzurechnen, so hat man sich zu erinnern, dass bei der Aichung dieses Saccharimeters auf Traubenzucker die spec. Drehung desselben zu 56 ^{0} angenommen wurde; 1 ^{0} Ventzke-Soleil bedeutet 1 g Zucker in 100 cc; es ist demnach 1 ^{0} Ventzke-Soleil = 0,56 Kreisbogengrad für Licht von der Wellenlänge D. Wie Landolt[2]) zeigt, führt diese Umrechnung für verschiedene Substanzen nur annäherungsweise zum richtigen Werth, weil die Rotationsdispersion des Quarzes meist von der anderer Substanzen abweicht; es ist vielmehr für jede Substanz ein besonderer Umrechnungsfactor erforderlich, der in jedem einzelnen Fall erst durch Versuche gefunden werden muss, und es ist daher räthlich, Bestimmungen mittelst der

---

1) Landolt, Ber. d. chem. Gesellsch. 21. 202; vergl. auch Meissl, Journ. f. prakt. Ch. 22. 102 u. 488.

2) Landolt, a. a. O. 193.

Quarzkeilcompensation, ausser in der Saccharimetrie, ganz zu unterlassen und sich vielmehr eines Halbschattenapparates zu bedienen.

Die wahren Zuckerprocente findet man durch Multiplication der nach Ventzke-Soleil bestimmten mit $\frac{56}{52,5} = \frac{32}{30} = 1,067$.

Wenn die polarimetrische Beobachtung, wie bei Ventzke-Soleil, nicht mit homogenem, sondern mit Lampenlicht vorgenommen wurde, so bezeichnet man den abgelesenen Winkel mit α_j (j = jaune); dieselbe Bezeichnung hat man auch für Beobachtungen im Tageslicht beibehalten. Es ist aber α_j nicht gleich α_D, vielmehr verhält sich $\alpha_D : \alpha_j$ bei der Benützung von Lampenlicht nach Weiss = 1 : 1,0332, nach Hölzer = 1 : 1,0324, bei der Benützung von Tageslicht nach Montgolfier = 1 : 1,129, nach Landolt[1]) = 1 : 1,1306, nach Hölzer = 1 : 1,1601. Die starken Abweichungen der mit Benützung von Tageslicht gefundenen Werthe haben ihren Grund wahrscheinlich nicht in Beobachtungsfehlern, sondern in der wechselnden Beleuchtung. Nimmt man das Mittel der von Weiss und von Hölzer für Lampenlicht gefundenen Werthe für richtig an, so wäre $\alpha_j = 1,0328\,\alpha_D$ oder annähernd $\frac{31}{30}\alpha_D$. Gelbe Flüssigkeiten geben nach Hölzer bei der Untersuchung mit Lampenlicht andere Werthe als ungefärbte Lösungen derselben Substanz bei gleicher Concentration. Der Apparat von Ventzke-Soleil ist ganz ausser Gebrauch gekommen.

§ 56. Spectrophotometrie.

A. Princip und Verwendung. Farbig erscheint ein durchsichtiges Medium dann, wenn es nicht alle Lichtstrahlen mit gleicher Intensität hindurchlässt, sondern die einzelnen in verschiedenem Grade absorbirt. Die Lichtstrahlen, welche durch das Medium mit in verschiedenem Grade verminderter Intensität hindurchgegangen sind, setzen die Farbe des Mediums zusammen. Der Intensitätsverlust des Lichts macht sich dadurch bemerklich, dass das vom Medium hindurchgelassene Licht in den verschiedenen Spectralregionen nicht mehr dieselbe Helligkeit besitzt, wie das ursprüngliche Licht in denselben Spectralregionen. Die Intensität, welche homogenes Licht nach dem Durchgang durch ein farbiges Medium noch besitzt, lässt sich messen und die Bestimmung dieser Grösse bildet das Wesen der von Vierordt[2]) begründeten Spectrophotometrie. Man pflegt die Intensität des auf das Medium fallenden Lichts mit J, die Intensität des durch das Medium gegangenen Lichts mit J′ zu bezeichnen.

Die Lösung eines farbigen Stoffs absorbirt das Licht verschiedener Spectralregionen nicht in gleichem Grade, aber das relative Verhältniss der Lichtabsorption in bestimmten Spectralregionen zu einander ist ein constantes; dadurch ist jeder farbige Stoff charakterisirt und darin von anderen verschieden. In der Constanz dieses Verhält-

---

1) A. Hölzer, Ber. d. chem. Gesellsch. 15. 1937. 1882. — Landolt, das optische Drehungsvermögen, 1. Aufl. S. 43.

2) K. Vierordt, die Anwendung des Spectralapparats zur Photometrie der Absorptionsspectren etc. Tübingen 1873.

nisses besitzt man also ein Mittel, farbige Stoffe, von welchen ein solches Verhältniss bekannt ist, mit Sicherheit zu erkennen und nachzuweisen, sie von anderen äusserlich ähnlichen zu unterscheiden und die gleichzeitige An- oder Abwesenheit anderer farbiger Substanzen festzustellen, sie also nach dieser Richtung auf ihre Reinheit zu prüfen. Ebenso lässt sich die Veränderung der Farbstoffe unter dem Einfluss von Reagentien sowie der Erfolg einer versuchten Trennung verschiedener Farbstoffe erforschen. Ist ferner von einem Farbstoff die absolute Grösse der Lichtabsorption in einer bestimmten Spectralregion bekannt, so kann man durch Messen der Lichtabsorption in einer Lösung desselben nicht blos seine Menge bestimmen, sondern erhält auch Aufschluss darüber, ob er mit einer fremden farblosen Substanz verunreinigt ist oder nicht.

B. Spectrophotometer. Alle Spectrophotometer haben das mit einander gemein, dass man zwei Spectren entwirft, dasjenige des Lichtes, welches durch die Farbstofflösung hindurchgegangen ist, und das der Lichtquelle selbst; dass man ferner die Helligkeit des directen Spectrums in einer bestimmten Region desselben herabmindert auf die Helligkeit des Spectrums der Farbstofflösung in derselben Region, und die Grösse dieser Helligkeitsverminderung des direkten Spectrums bestimmt. Aber in der Art, wie die Helligkeitsverminderung des direkten Spectrums bewirkt und gemessen wird, unterscheiden sich die verschiedenen Apparate von einander.

1. Das Vierordt'sche Spectrophotometer, das älteste und einfachste seiner Art, besteht, in der von G. Krüss[1]) verbesserten Form, aus einem gewöhnlichen Spectralapparat, welcher aber statt eines einzigen Spectralspaltes zwei vertical in gleicher Flucht über einander liegende besitzt. Jeder Spalt lässt sich für sich öffnen und schliessen und zwar sollen sich die zwei Platten jedes Spaltes symmetrisch zur optischen Achse bewegen; die Halbirungslinien beider Spalte fallen dann in eine zusammen. Die Schneiden der Spalte stehen genau im Brennpunkt des Objectivs und genau parallel der brechenden Kante des Prismas. Vor dem Doppelspalt ist, wie G. Krüss und H. Krüss[2]) berichten, auf Ostwald's Vorschlag ein Albrecht'sches Reflexionsprisma angebracht, welches, wie bei dem Hüfner'schen Apparat ermöglicht, dass beide Spectren ohne sichtbare und den Vergleich störende Grenze aneinander stossen. Die Spaltplatten lassen sich durch Mikrometerschrauben bewegen; am Kopf derselben sind getheilte Trommeln befestigt, mittelst deren man den Abstand der Platten von einander messen kann.

---

[1]) G. Krüss, Ber. d. chem. Gesellsch. **19**. 2739. 1886.

[2]) G. Krüss u. H. Krüss, a. a. O. — W. Ostwald, Hand- u. Hilfsbuch zur Ausführung physiko-chemischer Messungen 1893. 185.

Im Fernrohr befindet sich ein zweites, einen Spalt einschliessendes Plattenpaar, welches dazu dient, denjenigen schmalen Streifen des Spectrums, in welchem man die Untersuchung vornehmen will, aus dem übrigen Spectrum auszuscheiden und die nicht gewählten Antheile des Spectrums abzublenden. Die Breite des Ocularspaltes lässt sich durch eine Mikrometerschraube verändern und zugleich messen. Im Spalt befindet sich und zwar in der Focalebene des Oculars, ein Fadenkreuz.

Das Fernrohr selbst kann mittelst einer Mikrometerschraube mit getheilter Trommel um die verticale Achse des Instruments bewegt werden; ausserdem ist das Fadenkreuz gleichfalls durch eine Mikrometerschraube mit getheilter Trommel für sich allein beweglich. Diese zwei Messvorrichtungen ermöglichen eine sichere und feine Orientirung im Spectrum.

Für die Beobachtung stellt man den Ocularspalt auf diejenige Spectralregion ein, in welcher man die Lichtabsorption bestimmen will, bringt dann ein Glaskästchen halb voll Wasser so an, dass die Oberfläche der Flüssigkeit in derselben Höhe liegt, wie die Grenze der beiden Spalte und ertheilt dann den beiden Spalten eine solche Weite, dass beide Spectra gleich hell erscheinen. Ersetzt man dann das Wasser durch eine Farbstofflösung, so erscheint das eine Spectrum dunkler als das andere. Man verengert dann den freien Spalt so weit, dass beide Spectren die gleiche Helligkeit besitzen. Die Lichtmenge, welche durch Spalte verschiedener Breiten geht, ist aber den Spaltbreiten unter der Voraussetzung proportional, dass benachbarte Theile des Spectrums gleiche Helligkeit, oder die rechts und links an einen Spectralstreifen grenzenden Theile im Mittel dieselbe Helligkeit wie der Spectralstreifen, besitzen. Der nach der Verengerung des freien Spaltes noch offen gebliebene Bruchtheil des Spaltes ist dann auch derjenige Bruchtheil der ursprünglichen Intensität des Lichts, welches durch den freien Spalt geht und zugleich derjenige Bruchtheil der ursprünglichen Lichtstärke, welchen die Farbstofflösung hindurchgelassen hat.

Im Vierordt'schen Apparat wird also die Verminderung der Lichtintensität direkt gemessen durch Verengerung des freien Spaltes. Vor den Polarisations-Spectrophotometern (2 und 3) und solchen mit Spectroskopen à vision directe hat er eine grössere Lichtstärke voraus was namentlich bei Beobachtungen in den lichtschwächeren Theilen des Spectrums von Bedeutung ist. Jene eignen sich deshalb wegen der geringen Helligkeit wenig zur Untersuchung solcher Substanzen, deren Absorption, wie beim Urobilin oder Bilirubin, gerade in diese Spectralregion fällt. Aber auch bei Untersuchungen in anderen lichtstärkeren Bezirken kann der Collimatorspalt nicht so eng gemacht werden, wie bei Vierordt, und das Spectrum ist nicht so rein, somit die Messung nicht so genau, wie bei diesem.

Die Apparate unterscheiden sich durch die Lichtmenge, welche sie beim Durchgang des Lichts durch ein farbloses Mittel in Folge ihrer Construction absorbiren. Setzt man die Helligkeit des Vierordt'schen Spectrophotometers = 1, so beträgt nach G. Krüss und H. Krüss[1]) die des Glan'schen 0,42, die des Hüfner'schen 0,35.

Die Messungen sind nach Vierordt mit kleinen Fehlern behaftet. In dem Abschnitt A bis C$^3/_4$ D fällt der beobachtete Absorptionswerth um 4,6—0,9% zu klein aus, zwischen D bis H dagegen um 0,6—1,6% zu gross. Zur Beseitigung dieser Fehler hat sie Vierordt[2]) für die einzelnen Spectralbezirke genau bestimmt und in einer Tabelle zusammengestellt, nach welcher man die Correctur vornehmen kann.

An dem ursprünglichen Vierordt'schen Apparat waren die Platten des Doppelspaltes nur nach einer Seite beweglich, die Spectren verschoben sich nur nach einer Seite und zwar bei ungleicher Breite der beiden Spalte in verschiedenem Maasse; in Folge davon hatten die beiden über einander liegenden Spectren einen, die Einstellung auf gleiche Helligkeit erschwerenden, etwas verschiedenen Farbenton. Vierordt vermied daher eine zu grosse Ungleichheit der Spaltbreiten und glich die Helligkeitsunterschiede durch Vorlagerung von Rauchgläsern vor den freien Spalt grossentheils aus, ehe er die Helligkeitsgleichheit durch Verengerung des freien Spalts völlig herstellte; von den Rauchgläsern musste aber vorher das Absorptionsvermögen für jede einzelne Spectralregion festgestellt werden. Der von H. Krüss[3]) eingeführte symmetrisch bewegliche Doppelspalt soll diesen Fehler in anderer Weise und zwar dadurch unschädlich machen, dass zur Vermehrung der Helligkeit ebensoviel Strahlen kleinerer als grösserer Brechbarkeit beitragen. Die Schneiden der Platten bestehen in dem Instrument von G. Krüss aus Platin und sind möglichst fein und glatt geschliffen, so dass sie einander bis auf 0,002 bis 0,004 mm genähert werden können, ohne dass die den Rauhigkeiten der Schneiden entspringenden Querstreifen im Spectrum entstehen. Man ist dadurch in den Stand gesetzt, concentrirte Farbstofflösungen ohne Weiteres zu untersuchen; je concentrirter aber eine Lösung ist, desto weniger machen sich die Beobachtungsfehler geltend. Bei den Apparaten älterer Construction war eine Näherung der Schneiden auf einen so geringen Abstand nicht möglich, und Vierordt sah sich auch aus diesem Grunde bei der Untersuchung concentrirter Lösungen zur Anwendung der Rauchgläser für das Abdämpfen des helleren Spectrums veranlasst.

Bei den Beobachtungen hat man aus einer Region mit möglichst gleichartigem Licht mittelst des Ocularspaltes einen möglichst schmalen Streifen auszuwählen; bei einer zu grossen Enge des Spectralspaltes sind aber Helligkeitsunterschiede in beiden Spectren nicht mehr mit Sicherheit wahrzunehmen. Die geringste noch zulässige Breite (C) des Ocularspaltes wird nach G. Krüss[4]) noch ausgedrückt durch $\frac{3,524}{V} = C$, in Millimetern, wo V die lineare Vergrösserung des Oculars bedeutet. Sie ist in dem Instrument von Krüss ungefähr siebenfach, und die geringste Ocularspaltbreite beträgt daher 0,5 mm. Eine stärkere Vergrösserung des Oculars ist nicht zu empfehlen; denn die Helligkeit, welche mit der Zunahme der Vergrösserung abnimmt, wird dann zu gering.

Die Messvorrichtungen an dem Apparat sind derart, dass die geringsten Abstände, welche im blauen Theil des Spectrums noch abgelesen werden können, Lichtarten von ausserordentlich kleiner Differenz der Wellenlänge entsprechen. Bei feinen Bestimmungen der Wellenlängen ist daher auch auf die Temperatur der Prismen Rücksicht zu nehmen; denn es wächst das Brechungsvermögen mit dem

---

1) G. Krüss und H. Krüss, Ztschr. f. anorgan. Chemie **1**. 104; Berichte d. chem. Gesellsch. **27**. Ref. 942. 1894.
2) Vierordt, Ztschr. f. Biol. **14**. 34.
3) H. Krüss, Ztschr. f. analyt. Ch. **21**. 182. 1882.
4) G. Krüss, Ber. d. chem. Gesellsch. **18**. 983. 1885.

Steigen der Temperatur bei Glas, und nimmt ab bei Quarz. Bei Temperaturerhöhung ist das Spectrum von Glasprismen nach dem violetten Ende, das von Quarzprismen nach dem rothen Ende verschoben. Im Apparat von Krüss[1]) wird durch eine Temperaturerhöhung von ungefähr 5° die Linie D_1 an die Stelle von D_2 verlegt.

Der Apparat besitzt zwei Prismen von verschiedener Dispersion, ein Flintglasprisma von 60° und ein Rutherford-Prisma; das Glasprisma zerstreut das Licht von A bis H_2 um 4° 18′, das andere um 8° 2′. Durch eine einfache Vorrichtung kann bei Bewegung des Beobachtungsfernrohrs gleichzeitig automatisch die Einstellung jedes der beiden Prismen in das Minimum der Ablenkung für jede beobachtete Spectralregion bewirkt werden.

An dem Instrument lässt sich der Doppelspalt gegen einen einfachen auswechseln; es besitzt ferner ein Vergleichsprisma, ein Skalenfernrohr mit der Skala im Brennpunkt seines Oculars. Es lässt sich also auch für qualitative Untersuchungen einrichten; G. Krüss bezeichnet es desshalb als Universal-Spectralapparat. Derselbe wird von A. Krüss in Hamburg, Adolphbrücke 7, gefertigt.

2. Das Hüfner'sche Spectrophotometer[2]) ist ein Spectralapparat mit gerader Durchsicht, mit Ocularschieber zum Abblenden des nicht benutzten Theils des Spectrums, wie im Vierordt'schen Instrument, aber mit nur einem einfachen Spalt mit symmetrisch beweglichen Schneiden. Von dem durch eine Linse parallel gemachten Licht gelangt ein Theil direkt in das Instrument, der andere Theil nach dem Durchgang durch ein Nicol; beide Lichtbündel werden durch einen Flintglaskörper mit zwei planparallelen Flächenpaaren (das Albrecht'sche Reflexionsprisma) so gebrochen, dass beide Strahlenbündel, somit auch die beiden aus ihnen erzeugten Spectren, unmittelbar über einander liegen. Das polarisirte Licht geht weiter durch ein zweites, im Fernrohr befindliches, um seine Achse drehbares Nicol, dessen Hauptschnitt in der Nullstellung dem Hauptschnitt des polarisirenden Nicols parallel steht. Durch den Durchgang des Lichts durch die beiden Nicol büsst dieses Lichtbündel an Intensität ein. Es werden daher vor Anstellung der Beobachtung die Intensitäten beider Lichtbündel durch einen Rauchglaskeil, welcher vor die das freie Licht aufnehmende Spalthälfte geschoben wird, einander gleich gemacht. Vor der freien Spalthälfte wird die farbige Lösung aufgestellt. Die Intensität des polarisirten Lichts wird nun durch Drehen des analysirenden Nicol um seine Achse auf die des Lichtes herabgesetzt, welches durch das absorbirende Medium gegangen ist. Ist J die Intensität des polarisirten Lichts bei der Nullstellung der Nicol, J′ die bei gleicher Helligkeit beider Spectren, und φ der Winkel, um welchen der Analysator gedreht wurde, so ist $J' = J \cos^2 \varphi$, und wenn $J = 1$, $J' = \cos^2 \varphi$.

Eine „Anleitung zum Gebrauche des Hüfner'schen Spectrophotometers" ist vom Verfertiger des Apparats, Universitätsmechaniker E. Albrecht in Tübingen, verfasst worden (Tübingen, F. Pietzker, 1892). — Das Instrument wird mit allem Zubehör von Albrecht zum Preise von 685 Mrk. geliefert.

---

1) G. Krüss, a. a. O. **17**. 2732. 1884.
2) G. Hüfner, Ztschr. f. physikal. Ch. **3**. 562. 1889.

3. Das Glan'sche Spectrophotometer[1]) enthält ausser den optischen Bestandtheilen eines Spectroskops (mit gerader Durchsicht), einem Vierordt'schen Ocularspalt und einem einfachen Collimatorspalt mit einer einseitig beweglichen Platte noch ein doppelbrechendes (Wollaston'sches oder Rochon'sches) Prisma und ein um seine Achse drehbares Nicol. Beide Prismen befinden sich entweder unmittelbar hinter einander im Collimatorrohr, vor dem dispergirenden Apparat, oder das doppelbrechende Prisma befindet sich im Collimatorrohr und das Nicol'sche Prisma im Fernrohr, der dispergirende Prismensatz also zwischen beiden. Das doppelbrechende Prisma zerlegt das Licht in zwei rechtwinklig zu einander polarisirte Bündel; steht sein Hauptschnitt parallel (oder rechtwinklig) zum Collimatorspalt, so erhält man zwei senkrecht über einander liegende Spectren, von denen das eine oder das andere durch das Nicol, je nach der Stellung desselben, ausgelöscht wird. Eine solche Stellung des Nicols wird als Nullpunkt bezeichnet und da nun bei der Drehung des Nicols um einen ganzen Kreis jedes der zwei Spectren zweimal verschwindet, also vier solche Stellungen möglich sind, so hat man die Wahl zwischen vier Nullpunkten. Für jeden der Nullpunkte wird aber die Bestimmung der übrig gebliebenen Lichtintensität eine andere und man hat daher den einmal gewählten Nullpunkt für die in Gang befindliche Beobachtung beizubehalten.

Für den Gebrauch des Instruments hat man zunächst, wie bei dem Hüfner'schen Instrument, und wie sich bei dem Vierordt'schen von selbst ergiebt, ehe man die farbige Flüssigkeit vor das Photometer stellt, beiden Spectren gleiche Helligkeit zu ertheilen. Dies geschieht, unter Beleuchtung des Spalts durch paralleles Licht wie beim Hüfner-schen Apparat, durch Drehen des Nicols von der Nullstellung aus. Der Winkel, um welchen der Nicol gedreht werden musste, kann gemessen werden; er sei α. Dann setzt man die farbige Flüssigkeit vor die obere oder die untere Spalthälfte, dreht den Nicol wieder von der gewählten Nullstellung aus, bis gleiche Helligkeit beider Spectren eingetreten ist und liest diesen Winkel wieder an der Kreistheilung ab; er sei β. Diese zwei Winkel dienen zur Berechnung der Intensität des aus der Lösung austretenden Lichts. Wählt man ein und dieselbe Spalthälfte sowohl für die Nullpunktstellung als für die Absorption, z. B. die obere — in diesem Falle verschwindet, da die Bilder der Spectren im Instrument umgekehrt werden, das untere Spectrum in der Nullstellung —, so ist β grösser als α, und

$$J' = J \operatorname{tg}^2 \alpha \,.\, \operatorname{cotg}^2 \beta, \text{ und wenn } J = 1, \; J' = \operatorname{tg}^2 \alpha \,.\, \operatorname{cotg}^2 \beta.$$

---

[1]) P. Glan, Poggendorff's Annalen [2] **1**. 351. 1877; Pflüger's Archiv **24**. 307. 1881.

Benutzt man dagegen den einen (oberen) Spalt für die Absorption, den anderen (unteren) für die Nullpunktstellung, so ist β kleiner als α und

$$J' = J \cot^2 \alpha \, . \, tg^2 \beta, \text{ und wenn } J = 1, \; J' = \cot^2 \alpha \, . \, tg^2 \beta.$$

Bei der Aufstellung des Instruments stellt man zunächst das Ocular des Fernrohrs scharf auf den Ocularspalt ein und fixirt beide gegen einander mittelst einer am Fernrohr angebrachten Schraube, stellt darauf das Fernrohr durch Verschieben desselben im Ganzen auf den Collimatorspalt ein und dreht bei einer Mittelstellung des Nicols das doppelbrechende Prisma so weit um seine Achse, dass die D-Linie (oder die schwarze Trennungslinie der D-Linien) des einen Spectrums in die Verlängerung der des anderen Spectrums fällt. Sind die Endflächen des Nicols einander nicht ganz parallel, so verschieben sich bei einer Drehung des Nicols die Spectrallinien in den beiden Spectren wieder seitlich gegen einander; diese Abweichungen hat man für verschiedene Winkel des Nicols und in den verschiedenen Quadranten zu bestimmen und die abgelesenen Winkel nach ihnen zu corrigiren.

Die Helligkeit zweier über einander liegender Spectralregionen lässt sich nur dann sicher beurtheilen, wenn sie unmittelbar an einander stossen; die Dispersion, welche das Licht durch das doppelbrechende Prisma erfährt, bewirkt aber, dass die beiden Spectren einen spitzen Winkel mit einander bilden, dessen Scheitel gegen das violette Ende zu liegt. Nähert man den Collimatorspalt der Collimatorlinse, worauf der Apparat eingerichtet ist, so nähern sich auch die beiden Spectren einander, und decken sich vom violetten Ende her eine kleinere oder grössere Strecke weit. An der Spectralregion, welche für die Beobachtung gewählt wurde, müssen die beiden Spectren in dieser Weise über einander greifen; diese Stelle wird aber durch ein 4—5 mm breites geschwärztes Messingband, welches den Collimatorspalt in eine untere und eine obere Hälfte theilt, abgeblendet, so dass sich beide Spectren unmittelbar berühren. Ist diese Anordnung getroffen, so stellt man das Fernrohr wieder auf den Spectralspalt ein. Sollen durch eine solche Aenderung in der Justirung des Instruments keine Fehler in die Beobachtung eingeführt werden, so muss die Verschiebung des Fernrohrs und des Collimatorrohrs vollständig in ihren optischen Achsen erfolgen und der Collimatorspalt in derselben vertikalen Ebene bleiben, was in Wirklichkeit kaum erreichbar ist. Den Uebelstand, welcher bei Nichterfüllung dieser Bedingung eintritt, vermeidet Torup[1]) dadurch, dass er die Spectren sogleich bis zum rothen Ende zusammenfallen lässt, das Fernrohr auf den Collimatorspalt fest einstellt, und nun die sich deckenden Spectraltheile durch einen Streifen von veränderlicher Breite, an Stelle des Glan'schen Bandes, abblendet; dieser Streifen besteht aus zwei scheerenartig übereinandergreifenden, keilförmigen Blättern, welche mittelst einer Schraube parallel übereinander geschoben oder von einander abgerückt werden können. — Nach der Breite der Stelle, in welcher sich die Spectren berühren, richtet sich die grösste Breite des Ocularspaltes; sie kann (scheinbar) 3 mm betragen.

Es ist ferner der Winkel α zu bestimmen. Die Grösse desselben hängt nicht blos ab von dem Grade der Gleichmässigkeit, mit welcher die beiden Spectralhälften beleuchtet sind, sondern auch von der Wellenlänge des Lichts (Pulfrich, Torup), und, wie Torup nachgewiesen hat, von der Breite des Collimatorspaltes. Er ist daher für jede Spectralregion und für jede Breite des Collimatorspaltes besonders zu bestimmen und im Laufe der Beobachtung, wegen möglicher Weise eingetretener Aenderungen in der relativen Beleuchtung beider Spalthälften, oft zu controliren. Es folgt ferner hieraus, dass man die Breite des Collimatorspaltes bei zusammengehörigen Beobachtungen nicht verändern darf, um so weniger, als sie auch die Grösse des Winkels β beeinflusst. Zur Bestimmung von α verfährt man nun so, dass man vor den Spectralspalt das Glaskästchen, welches zur Aufnahme der farbigen Flüssigkeit bestimmt ist, so hoch mit Wasser gefüllt aufstellt, als die Farbstofflösung später reichen soll, nun das Nicol von zwei entgegengesetzten

[1]) S. Torup, Om Blodets Kulsyrebinding. Kjöbenhavn 1887. 82.

Quadranten aus einmal von rechts und einmal von links so weit dreht, bis gleiche Helligkeit der beiden Spectralregionen erreicht ist und aus beiden Ablesungen das Mittel zieht. Der Winkel α wird gerechnet von der Nullpunktstellung aus, der Stellung des Nicols, bei welcher das Spectrum gerade verschwindet; dieser Punkt ist ebenfalls von zwei Quadranten aus festzustellen, indem man nach Torup zugleich das Spectrum (durch Erweiterung des Spalts) sehr lichtstark macht und das zweite sichtbar bleibende Spectrum durch einen Schirm abblendet. — Für die Bestimmung des Winkels α und für die der Absorption hat Torup dem Collimatorspalt eine constante Breite von 0,25 mm ertheilt.

4. Abänderungen des Glan'schen Spectrophotometers sind namentlich in der Weise vorgenommen worden, dass man in den Apparat noch ein Polariskop eingeschaltet hat; man lässt die beiden Spectren der Länge nach über einander greifen, ohne diese Stelle abzublenden, und nimmt dann, so lang die beiden Spectren ungleich hell sind, Interferenzstreifen wahr. Apparate der Art sind von Trannin und von Branly[1]) construirt worden.

Diese Spectrophotometer sind nach Lambling[2]) empfindlicher, als die anderen, haben aber Uebelstände, welche diesen Vortheil aufwiegen. Ihre Construction und ihr Gebrauch machen grosse Schwierigkeiten. Die Instrumente mit gerader Durchsicht werden so lang, dass man die Stellung der Absorptionszelle, die Lampe und den Spalt nicht vom Beobachtungsplatz aus reguliren kann; man muss ferner den Blick so genau wie möglich auf die sich deckenden Spectren gerichtet halten und das erforderliche sehr helle Licht ermüdet das Auge sehr, so dass schwache Interferenzstreifen bei längerer Beobachtung nur schwer wahrgenommen werden.

C. Hilfsapparate. 1. Als Lichtquelle dient eine Petroleumlampe (mit Flachbrenner) oder Auer'sches Glühlicht; bei der Petroleumlampe soll die Längsrichtung des Dochtes mit der verlängerten Achse des Collimatorrohres nahezu zusammenfallen. Die Flamme ist von einem undurchsichtigen Cylinder mit Spalt oder rundem Loch eingeschlossen und wird bei Hüfner und bei Glan, zweckmässig auch bei Vierordt, in den Brennpunkt einer grossen Objektivlinse gestellt, welche paralleles Licht auf den Spectralspalt wirft.

Nach Vierordt ist die Genauigkeit der Beobachtungen unabhängig von der Art der Lichtquelle, ihrer Stärke und den jeweiligen Schwankungen derselben, weil beide Spectren gleichmässig von diesen Schwankungen betroffen werden; doch zieht Vierordt die Petroleumflamme wegen ihrer grösseren Stetigkeit dem gewöhnlichen Gaslicht vor. Im Gegensatz zu Vierordt leitet Torup[3]) aus seinen Beobachtungen das auffällige Resultat ab, dass die von einem gegebenen Medium absorbirte Lichtmenge der ursprünglichen Lichtstärke nicht proportional sei, sondern dass von Licht starker Intensität mehr absorbirt werde als von Licht schwacher Intensität. Es kämen jedoch nach Torup bei der Untersuchung der Absorption durch Medien ungefähr desselben Absorptionsvermögens Schwankungen in der Lichtintensität erst in Betracht, wenn sie 25 % der ursprünglichen Lichtstärke erreichten; starke Intensitätsschwankungen sind erfahrungsgemäss der Genauigkeit der Beobachtung abträglich, vielleicht weil helleres Licht einer künstlichen Lichtquelle aus

---

1) Trannin, Mesure des intensités relatives des divers radiations etc. Thèse. Lille 1877. — Lambling, Archives de physiologie norm. et path. [4] 2. 389. 1888.
2) Lambling, a. a. O. 417.
3) Torup, a. a. O. 89.

Strahlen anderer Wellenlängen zusammengesetzt sein kann, als minder helles; um 25 % schwankt aber die Lichtstärke einer Petroleumflamme im Lauf von 1 bis 2 Stunden nicht. Dagegen könnten sich nach Torup solche Schwankungen beim Messen und Vergleichen der Absorption durch Medien von ungleich absorbirender Kraft, z. B. von Lösungen verschiedener Concentration, in störender Weise bemerklich machen.

2. Die Absorptionszelle besteht entweder aus einem einfachen Glastrog mit planparallelen Wänden oder aus einem ebensolchen Kästchen mit einem planparallelen Flintglasblock, welcher das Kästchen der Dicke nach nicht ganz ausfüllt und nur etwa halb so hoch ist als das Kästchen (Schulz'scher Trog). Die absorbirende Schicht soll 1 cm oder ein Multiplum nach ganzen Zahlen betragen.

Die einfachen Glaströge werden nur zur Hälfte mit Flüssigkeit gefüllt vor den Spectralspalt gestellt. Der Meniscus, welchen die von der Oberfläche an der Wand aufsteigende Flüssigkeit bildet, trennt als schwarzer Streifen die beiden Spectren und erschwert deshalb ihre Vergleichung beim Vierordt'schen Apparat; bei dem Glan'schen Instrument wird er zugleich mit dem sich deckenden Theil der Spectren durch das Band vor dem Collimatorspalt abgeblendet. Da der leere Theil des Kästchens mehr Licht reflectirt als der gefüllte, so würden die beiden Spectren von vornherein ungleiche Helligkeit besitzen; man kann das Kästchen also nur so benutzen, dass es, halb mit Wasser gefüllt, vor den Collimatorspalt gestellt wird, wenn bei Glan der Winkel α bestimmt wird und bei Vierordt die Spalte auf gleiche Helligkeit gestellt werden. Das Kästchen soll 1 oder 2 oder 3 . . . cm weit sein.

Der Schulz'sche Trog bringt diese Uebelstände in Wegfall. An demselben ist der Flintglaskörper polirt, die obere Fläche aber matt, damit von ihr kein Licht reflectirt wird. Wenn der Block vor dem Spectralspalt in der richtigen Höhe steht und seine obere Fläche horizontal gelagert ist, so erscheinen beide Spectren nur durch eine feine schwarze Linie getrennt. Das Albrecht'sche Reflexionsprisma beseitigt, auch bei dem Vierordt'schen Apparat, die trennende Linie. Der Block soll genau 1 (oder 2 oder 3 . . .) cm dick, der Trog um ungefähr 1 mm weiter sein. Die obere Schicht der Flüssigkeit ist dann um 1 (oder 2 oder 3 . . .) cm dicker als die untere, und die Absorption wird dann in einer 1 (oder 2 oder 3 . . .) cm dicken Flüssigkeitsschicht gemessen. Die Lichtschwächung, welche die obere Schicht durch das Uebermaass der Flüssigkeitsschicht erfährt, trifft die untere Schicht in demselben Grade durch die zwischen Block und Kästchenwand befindliche Schicht. Beide gleich dicke supplementäre Schichten schwächen das Licht in beiden Spectralhälften gleichmässig, wie etwa die Vorlagerung eines Rauchglases oder ein anderer lichtschwächender Umstand. — Es giebt auch verschliessbare Tröge für die Untersuchung von Lösungen mit flüchtigen Lösungsmitteln (Chloroform).

Arbeitet man immer mit derselben Absorptionszelle, so bleiben die Resultate unter einander vergleichbar, auch wenn die absorbirende Schicht nicht genau die gewählte Dicke besitzt. Sollen die Messungen aber mit andern verglichen werden, zu deren Gewinnung andere Tröge dienten, so muss die Weite des einfachen Trogs oder die Dicke des Flintglasblocks bekannt sein und die Absorption auf 1 cm reducirt werden. Es geschieht dies am Einfachsten in der Weise, dass man die für den Extinctionscoefficienten gefundenen Werthe durch die in Centimetern ausgedrückte Dicke der wirksamen Schicht (der Dicke des Blocks) dividirt. (Vergl. D. 2. a.).

3. Die Orientirung im Spectrum. Im Sonnenspectrum orientirt man sich nach den Fraunhofer'schen Linien. Da man aber die Beobachtungen am continuirlichen Spectrum künstlicher Lichtquellen anstellt, so muss bei diesem die Orientirung in anderer Weise ausgeführt

werden können. Alle besseren Spectralapparate und mit ihnen die Spectrophotometer sind so eingerichtet, dass die Lage des Fadenkreuzes im Spectrum aussen an einer Skala und durch die Grösse der Umdrehung bestimmt ist, welche die zur Einstellung dienende Mikrometerschraube zu machen hat. Sind diese Stellungen fest gewählt, so lässt sich an ihnen erkennen, auf welchen Spectralbezirk das Fadenkreuz fällt. Für diese Einstellung dienen als Marken die Fraunhofer'schen Linien. Zur Orientirung im Raum zwischen zwei solchen Linien hat Stokes den Abstand je zweier derselben in der Richtung vom Roth zum Violett in 100 gleiche Theile getheilt und Vierordt ist diesem Vorbilde gefolgt. Es ist also z. B. D 32 E diejenige Stelle im Spectrum, welche in der Richtung von D nach E um 32 Theile von D entfernt ist und D 32 E—D 53 E derjenige Spectralbezirk, welcher vom 32. und 53. Theilstrich zwischen D und E begrenzt ist.

Einer anderen Art der Orientirung liegt die Wellenlänge der einzelnen Lichtarten zu Grunde. Die Aichung des Spectrums nach Wellenlängen nimmt man durch graphische Interpolation in der Weise vor, dass man in einem Coordinatennetz auf der Abscisse die Zahlen der Skala aufträgt, auf der Coordinatenachse die Wellenlängen λ in $\mu\mu$ (Millionstel-Millimeter), dann weiter auf der Abscisse die Fraunhofer'schen Linien und die Linien einiger Metallspectren nach ihrer Lage auf der Skala einzeichnet, so aber, dass die Natriumlinie D auf den 50. Theilstrich der Skala fällt. Auf den diesen Linien entsprechenden Ordinaten markirt man die den Linien entsprechenden bekannten Wellenlängen und verbindet die einzelnen Punkte durch eine Curve. Will man darnach die Lage eines Absorptionsstreifens (oder einer Spectrallinie) in Wellenlängen angeben, so bestimmt man erst seine Lage auf der Skala und verfolgt die dazu gehörige Ordinate bis zur Curve; der Punkt, in welchem beide Linien zusammentreffen, giebt die Wellenlänge an, welche auf der Coordinatenachse aufzusuchen ist.

Zur Anfertigung der Tafel verwendet man Millimeterpapier. Die Skala trägt man von links nach rechts auf und nimmt dabei 10 Mmtr. = 10 Theilstrichen der Skala. Die Wellenlängen werden von 400—800 auf der Coordinatenachse von unten nach oben verzeichnet in Abständen, dass die ganze Strecke ungefähr so lang wird wie die Strecke der Skala. Die Fraunhofer'schen Linien nimmt man auf der Skala in zerstreutem Tageslicht auf. Ausser diesen und der Natriumlinie bestimmt man noch die Lage von K α und Li α in Roth, Tl in Grün, Sr δ und K β in Blau mittelst der Chloride dieser Metalle oder mit Salzsäure benetzter anderer Salze in einer nicht leuchtenden Gasflamme. Man hat dann

	K α	Li α	C	Na, D	Tl	E	F	Sr δ	G
$\mu\mu$	770	670,5	656,3	589,3	535	527	486	461	431

Mittelst elektrischer Entladungen in verdünntem Wasserstoff kann man noch sichtbar machen H α = C, H β = F und H γ (im Violett) = 434 $\mu\mu$. Nicht jeder Spectralapparat zeigt die an den äussersten Enden der Reihe stehenden Linien.

Die Curve zieht man mit freier Hand aus, oder mittelst eines Lineals aus einem Streifen Stahlblech, das durch eine über eine Längsseite geschlagene Bleileiste versteift ist; dasselbe lässt sich zu der gewünschten Curve biegen und wird in der Krümmung durch die Bleileiste erhalten. Wollte man die Punkte der Curve durch gerade Linien verbinden, so würde die Zeichnung fehlerhaft.

Eine auf diese Weise entworfene Skala am Ende der Tafel IV ermöglicht die Vergleichung der Bezeichnung nach Wellenlängen und nach der Art von Stokes-Vierordt und die Uebersetzung beider ineinander.

Die Lage der Absorptionsstreifen bestimmt man entweder nach ihrer dunkelsten Stelle oder nach ihren Grenzen, was Beides nicht sehr sicher ist.

D. Die Absorptionsgesetze. 1. Die Absorption des Lichts erfolgt in geometrischem Verhältnisse zur Dicke der absorbirenden Schicht (Lambert).

a. Denkt man sich, nach Lambling, das absorbirende Medium in gleich dicke, hinter einander liegende Schichten zerlegt, so vermindert jede Schicht die Intensität des durch sie gehenden Lichts auf denselben Bruchtheil, wie jede der vorliegenden. Wird die Intensität des Lichts durch eine Schicht vermindert auf $\frac{1}{x}$, so ist die Intensität des Lichts nach dem Durchgang durch n Schichten vermindert auf $\frac{1}{x^n}$. Die übrig gebliebene Intensität J' ist also $= \frac{1}{x^n}$ J, und wenn $J = 1$, $J' = \frac{1}{x^n}$.

b. Untersuchungen mit Hämoglobinlösungen verschiedener Concentration haben ergeben, dass die Absorption durch diesen Farbstoff entgegen der sonst giltigen Ansicht nicht genau proportional der Concentration der Lösung erfolgt, sondern dass die concentrirteren Lösungen relativ weniger Licht absorbiren als die verdünnteren (vgl. D. 5. a.).

c. Als Einheit der Schichtendicke gilt 1 Centimeter (vgl. C. 2.).

d. Unter Concentration versteht man mit Vierordt die Anzahl Gramm farbiger Substanz, welche im Cubikcentimeter gelöst ist.

2. Als Maass der Lichtabsorption dient der Exstinctionscoefficient, das ist der negative Logarithmus der übrig bleibenden Lichtstärke (Bunsen): er wird mit ε bezeichnet. Die übrig bleibende Lichtstärke und der Exstinctionscoefficient stehen zu einander im umgekehrten Verhältniss. Reducirt man die Exstinctionscoefficienten verschiedener Spectralbezirke auf einen als Einheit, so erhält man die relativen Exstinctionscoefficienten.

a. Der Exstinctionscoefficient ist der reciproke Werth derjenigen Schichtendicke, bei welcher die ursprüngliche Lichtstärke auf $\frac{1}{10}$ vermindert wird; ist n diese Schichtendicke, so ist also, in der Ableitung von Lambling,

$\varepsilon = \frac{1}{n}$, wenn nach D. 1. a. $J' = \frac{1}{x^n} J = \frac{1}{10} J$, oder, da $J = 1$, $J' = \frac{1}{x^n} = \frac{1}{10}$.

Daraus folgt

$$x^n = \frac{1}{J'} = 10; \text{ ferner } n = \frac{1}{\varepsilon}$$

$$n \log x = -\log J' = \log 10 = 1; \frac{1}{\varepsilon}\log x = 1, \log x = \varepsilon$$

$$n\,\varepsilon = -\log J', \; \varepsilon = -\frac{\log J'}{n}.$$

Nun soll die Dicke der Schicht, in welcher die Lösung untersucht wird, nach D. c. 1 Centimeter betragen, und es ist dann $n = 1$ und $\varepsilon = -\log J'$.

b. Da ε der Logarithmus von $\frac{1}{J'}$ ist, so ist ersichtlich, dass die übrig bleibende Lichtstärke zum Exstinctionscoefficienten im umgekehrten Verhältniss steht.

c. Für die Berechnung des Exstinctionscoefficienten hat man in die Formel $\varepsilon = -\log J'$, je nach der Art der Bestimmung von J', den für J' gefundenen Werth einzusetzen.

Bei der Benützung des Vierordt'schen Instruments ergiebt sich J' aus dem Verhältniss der Spaltbreiten; es sei = 0,365 gefunden worden. Man hat dann $\varepsilon = -\log 0{,}365 = -(0{,}562\,2929 - 1) = 0{,}43771$. Vierordt[1]) hat die negativen Logarithmen (Exstinctionscoefficienten) für die Zahlen von 0,0001 bis 0,999 tabellarisch zusammengestellt.

Bei der Bestimmung von J' mit dem Hüfner'schen Instrument ist $J' = \cos^2\varphi$; es ist dann $\varepsilon = -2\log\cos\varphi$. Es sei $\varphi = 58^0\,24'$ gefunden worden. Dann ist $\varepsilon = -2\,(9{,}719\,3196 - 10) = -2\,(-0{,}28068) = 0{,}56136$. In derselben Weise gerechnet ergiebt sich, wenn $\varphi = 73^0\,10'$, $\varepsilon = 1{,}07644$.

Nach der einen Einstellungsart mit dem Glan'schen Instrument ist

$$J' = \mathrm{tg}^2\alpha \,.\, \mathrm{cotg}^2\beta, \; \varepsilon \text{ also } = -2\,(\log \mathrm{tg}\,\alpha + \log \mathrm{cotg}\,\beta),$$

oder da $\mathrm{cotg}\,\beta = \frac{1}{\mathrm{tg}\,\beta}$, $\varepsilon = -2\,(\log \mathrm{tg}\,\alpha - \log \mathrm{tg}\,\beta)$; nach der andern Einstellungsart $J' = \mathrm{cotg}^2\alpha \,.\, \mathrm{tg}^2\beta$ und $\varepsilon = -2\,(\log \mathrm{cotg}\,\alpha + \log \mathrm{tg}\,\beta) = -2\,(\log \mathrm{tg}\,\beta - \log \mathrm{tg}\,\alpha)$. Sei nach der zweiten Einstellungsart $\alpha = 44^0\,11'$, $\beta = 18^0\,32'$ gefunden worden, so ist $\varepsilon = -2\,(9{,}525\,3589 - 9{,}987\,6179) = -2\,(-0{,}462\,2590) = 0{,}92452$.

3. Für jeden Farbstoff ist der Exstinctionscoefficient unter sonst gleichen Verhältnissen für Licht ein und desselben Spectralbezirks constant, aber für Licht verschiedener Spectralbezirke ein anderer. Es besitzt also jeder farbige Körper ein bestimmtes Absorptionsspectrum, in welchem die Exstinctionscoefficienten des Lichtes verschiedener Spectralbezirke zu einander in einem festen Verhältniss stehen.

4. Der Exstinctionscoefficient ist direct proportional der Concentration der Farbstofflösung, oder, was dasselbe ist, direct proportional der Dicke der vom Licht durchwanderten Schicht. Bei doppelter Concentration oder bei doppelt starker Schicht der Lösung ist also der Exstinctionscoefficient zweimal so gross als bei einfacher Concentration oder einfacher Dicke der Schicht. Der Exstinctionscoefficient von Lösungen verschiedener Concentration ist daher der einfachste und bequemste Ausdruck für die relativen Concentrationen.

---

[1]) Vierordt, Die Anwendung des Spectralapparats etc. S. 166.

Auf die Einheit von 1 cm Dicke der Schicht lässt sich der Exstinctionscoefficient zurückführen durch Division des für denselben gefundenen Werthes durch die in cm ausgedrückte Dicke der beobachteten Schicht (D. 2. a.).

Das Gesetz gilt nur für solche Lösungen, bei welchen die Lichtabsorption proportional der Concentration vor sich geht. Absorbirt dagegen die concentrirtere Lösung relativ weniger Licht, lässt sie also relativ mehr Licht durch, als die verdünntere, wie beim Hämoglobin beobachtet wurde (D. 5. a.), so ist der Exstinctionscoefficient der concentrirteren Lösung relativ kleiner.

5. Das Verhältniss zwischen Concentration der Farbstofflösung und Exstinctionscoefficienten ist ein constantes und wird **Absorptionsverhältniss** genannt. Bezeichnet man die Concentration der Lösung mit c, den Exstinctionscoefficienten mit ε und das Absorptionsverhältniss mit A, so ist $\frac{c}{\varepsilon} = A$ und $A\,\varepsilon = c$. Man findet also eine unbekannte Menge Farbstoff in g, welche im cc enthalten ist, wenn man den Exstinctionscoefficienten der Lösung unbekannter Concentration, für die 1 cm dicke Schicht, bestimmt und den gefundenen Werth mit dem ein für allemal ermittelten Absorptionsverhältniss multiplicirt.

a. Eine Ausnahme von dieser Regel bildet das Hämoglobin. Die Untersuchungen von Hüfner, v. Noorden, Otto, Sczelkow, Torup[1]) haben ergeben, dass das Absorptionsverhältniss des Hämoglobins für Licht desselben Spectralbezirks nicht constant ist, sondern mit der Concentration steigt; diese Thatsache geht namentlich deutlich aus den Beobachtungen von Torup an Lösungen mit grossen Unterschieden in der Concentration hervor. Auch für Licht eines zweiten Spectralbezirks erfolgt die Zunahme des Absorptionsverhältnisses mit der Concentration in derselben Regelmässigkeit, so dass der Quotient der Absorptionsverhältnisse für die zwei Spectralbezirke bei Lösungen gleicher Concentration nahezu derselbe ist (E. 2. b.). Torup hat weiter nachgewiesen, dass bei sehr starker Verdünnung des Hämoglobins das Absorptionsverhältniss mit der Verdünnung wieder zunimmt und Settegast[2]) hat ein Wachsen des Absorptionsverhältnisses mit der Verminderung der Concentration bei der Chromsäure, dem Kaliumpyrochromat und dem Farbstoff beobachtet, welcher bei der Einwirkung von Salpetersäure auf Diphenylamin entsteht.

Torup ist geneigt, die hier als Ausnahme von der Constanz des Absorptionsverhältnisses bezeichnete Erscheinung als Regel zu erklären. Es ist allerdings möglich, dass das Absorptionsverhältniss unter dem Einfluss der Concentration Veränderungen erleidet, ähnlich etwa wie die specifische Drehung. Zu einer sicheren Beantwortung der Frage sind aber noch viel zu wenig farbige Substanzen in dieser Hinsicht untersucht worden und das Hämoglobin sicher nicht der geeignetste Stoff dazu.

b. Die absoluten Werthe des Absorptionsverhältnisses des Hämoglobins haben in den angeführten Untersuchungen Abweichungen gezeigt, die sich schwerlich allein aus Unterschieden in der Concentration der Lösungen erklären lassen. Man kann aber auch nicht in der Verschiedenheit der Spectrophotometer verschiedener Systeme oder desselben Systems eine wesentliche Ursache dieser Abweichungen finden wollen. Otto hat zwar das Absorptionsverhältniss des (Hunde-) Hämo-

---

1) Hüfner, Ztschr. f. physiol. Ch. **3**. 9. — C. v. Noorden, daselbst **4**. 9. — Jac. G. Otto, Ztschr. f. physiol. Ch. **7**. 61; Pflüger's Archiv **31**. 244 und **36**. 12. — Sczelkow, Pflüger's Archiv **41**. 373. — Torup, a. a. O. 97.
2) H. Settegast, Poggendorff's Ann. [2] **7**. 242. 1879.

globins im Bezirk D 32 E — D 53 E mit einem Vierordt'schen Apparat zu 0,001 443, mit einem Hüfner-Apparat zu 0,001 880 bestimmt, Hüfner[1]) selbst aber hat es mit seinem Apparat zu 0,001 477, v. Noorden zu 0,001 324 gefunden. Diese Unterschiede müssen wohl in noch anderen Umständen begründet sein. Nach neueren Bestimmungen von Hüfner beträgt jedoch das Absorptionsverhältniss an der dunkelsten Stelle des breiten Absorptionsstreifens (β) des sauerstoffhaltigen Hämoglobins (zwischen λ 531,5 u. λ 542,5) 0,001 312, was als endgültiger Werth betrachtet werden kann.

6. In derselben Weise lassen sich zwei neben einander in einer Lösung befindliche Farbstoffe dann quantitativ bestimmen, wenn das Licht von jedem der Farbstoffe in verschiedenen Spectralbezirken in ungleichem Maasse durchgelassen wird. Sind

x und y die unbekannten Mengen der zwei Farbstoffe,

a und b ihr bekanntes Absorptionsverhältniss in dem einen Spectralbezirk,

c und d ihr Absorptionsverhältniss in dem anderen Bezirk und

ε und ε' die gemessene Summe der Exstinctionscoefficienten in beiden Bezirken,

so ist

$$x = \frac{(\varepsilon' d - \varepsilon b) a c}{a d - b c} \text{ und } y = \frac{(\varepsilon a - \varepsilon' c) b d}{a d - b c}.$$

7. Die Aufstellung des Absorptionsverhältnisses setzt die Kenntniss der Concentration voraus und diese lässt sich nur dann bestimmen, wenn der Farbstoff in reinem Zustande dargestellt ist. Von noch nicht isolirten Farbstoffen kennt man demnach auch das Absorptionsverhältniss nicht. Um aber dennoch eine vergleichbare Verhältnisszahl zu erhalten, setzt man für solche Farbstoffe c = 1 und erhält so das relative Absorptionsverhältniss.

Wenn ein einziger Farbstoff zu untersuchen ist, so nimmt man die Beobachtung in Spectralbezirken vor, in welchen die Absorption am Stärksten ist (sensible Bezirke). Hat man zwei Farbstoffe neben einander zu bestimmen, so wählt man diejenigen zwei Spectralbezirke aus, in deren jedem die beiden Farbstoffe die grösstmögliche Differenz ihrer Absorption darbieten.

Das Absorptionsspectrum einer Lösung mit mehr als einer farbigen Substanz entspricht nach Vierordt und nach G. Krüss[2]) der Summe der Spectren der einzelnen Körper dann, wenn die Farbstoffe nicht chemisch auf einander einwirken.

E. Anwendung der Spectrophotometrie auf den Harn. Der Hauptwerth der Spectrophotometrie liegt nicht sowohl in der Untersuchung des Harns selbst, als vielmehr in der der einzelnen Harnfarb-

---

[1]) Otto, Pflüger's Archiv **36**. 23. — Hüfner, du Bois' Archiv 1894. 137.

[2]) Vierordt, Die Anwendung des Spectralapparates etc. S. 53. — G. Krüss, Ber. d. chem. Gesellsch. **15**. 1243. 1882.

stoffe, vor Allem in der quantitativen Bestimmung der absoluten, oder, wenn das nicht angeht, wenigstens der relativen Menge der isolirten einzelnen Farbstoffe. Sie wird auch zur Unterscheidung einander sonst so ähnlicher Farbstoffe, wie des Urobilins und des Choletelins, von Nutzen sein. Leider ist das Absorptionsverhältniss der normalen Harnfarbstoffe nicht bekannt, mit Ausnahme des Urobilins, wenn man dieses dem Hydrobilirubin gleichsetzt. Für pathologischer Weise im Harn auftretende Farbstoffe hat Vierordt die Absorptionsverhältnisse ermittelt.

Ueber die Untersuchung des Harns selbst sind bereits S. 502 einige Angaben gemacht worden, welche hier in Bezug auf die Ermittelung der Art des Harnfarbstoffs und die Bestimmung der Menge des Harnfarbstoffs ergänzt werden.

Der Harn ist selten so farbstoffreich, dass er in 1 cm Schicht untersucht werden kann; auch absorbirt er das Licht der verschiedenen Spectralbezirke nicht mit gleicher Stärke. Es muss demnach die Dicke der Schicht, in welcher der Harn untersucht werden soll, den Absorptionsverhältnissen entsprechend gewählt werden; um aber vergleichbare Resultate zu erhalten, reducirt man alle Werthe nach D. 2. a. auf 1 cm.

1. Art des Harnfarbstoffs. Aus der Verschiedenheit der Exstinctionscoefficienten verschiedener normaler Harne in gleichen Spectralbezirken hat Vierordt bereits den Schluss gezogen, dass der normale Harn mehr als einen Farbstoff enthält.

Ausser diesen gewöhnlichen Farbstoffen können im Harn aber noch andere vorkommen, welche entweder überhaupt keine Absorptionsbänder besitzen, oder, wenn ihnen solche eigenthümlich sind, in solcher Verdünnung auftreten, dass die Bänder nicht wahrgenommen werden. In solchen Fällen kann die Bestimmung der Exstinctionscoefficienten des Harns in verschiedenen sensiblen Spectralbezirken und die Vergleichung derselben mit denen des normalen Harns Aufschluss über die An- oder Abwesenheit bestimmter, in ihrem optischen Verhalten bekannter Farbstoffe geben. Ueberschreiten die ermittelten Exstinctionscoefficienten die Grenzen der des normalen Harns, so ist fremder Farbstoff vorhanden, und aus der Grösse der Abweichungen in verschiedenen Spectralregionen lässt sich auf die Art des fremden Farbstoffs schliessen. Die nachstehende, Bestimmungen Vierordt's[1]) entnommene Tabelle enthält die relativen Exstinctionscoefficienten (bezogen auf ε in E 45 F — E 63 F als Einheit) des normalen Harns und einiger Farbstoffe, welche im Harn auftreten können.

Die angeführten Exstinctionscoefficienten des Harns sind das Mittel der von acht pigmentreichen Nachtharnen; die neben den Exstinctionscoefficienten stehenden eingeklammerten Zahlen geben die maximale Abweichung der Exstinctionscoefficienten in der betreffenden Spectralregion an. Unter die Farbstoffe ist das Hydrobilirubin aufgenommen worden, weil sein spectrales Verhalten dem des Urobilins ähnlich, das des Urobilins aber in dieser Ausdehnung noch nicht bekannt ist. Die letzte Columne giebt das Verhältniss zwischen dem relativen Exstinctionscoefficienten des Choletelins und dem des Hydrobilirubins an.

---

1) Vierordt, Die quantitative Spectralanalyse etc. Tübingen 1876. 78; Die Anwendung des Spectralapparates etc. Tübingen 1873. 110; die bei den einzelnen Farbstoffen in der ersten Abtheilung citirten Abhandlungen.

Relative Exstinctionscoefficienten.

Spectralbezirk.	Normaler Harn.	Choletelin.	Hydrobilirubin.	Bilirubin.	Indigo.	Hämoglobin.	Choletelin: Hydrobilirubin.
C 15 D — C 65 D	408 (3,09)	163	52	58	1840	—	3,13
D 87 E — E 8 F	692 (1,34)	676	291	132	1207	2114	2,32
E 8 F — E 26 F	833 (1,49)	754	347	167	1138	1357	2,17
E 26 F — E 45 F	913 (1,22)	855	533	678	1091	1105	1,60
E 45 F — E 63 F	1000 —	1000	1000	1000	1000	1000	1
E 63 F — E 80 F	1086 (1,13)	1111	1444	1907	962	1188	0,77
E 80 F — F	1190 (1,22)	1305	1144	3204	942	1307	1,14
F — F 21 G	1526 (1,50)	1455	1332	6580	860	1489	1,09
F 21 G — F 44 G	1721 (1,47)	1621	774	9393	—	2091	2,09
F 44 G — F 65 G	2006 (1,50)	2379	673	9974	—	3052	3,53
F 65 G — F 87 G	2432 (1,21)	2886	533	10845	678	4425	5,41
F 87 G — G 10 H	2846 (1,20)	3165	440	11845	—	7230	7,19
D — D 19 E						2479	
D 19 E — D 54 E						1819	
D 54 E — D 87 E						2762	

Freilich ist dabei zu bedenken, dass sich gerade die angeführten pathologischen Farbstoffe in einfacherer Weise im Harn auffinden lassen, als durch die Spectrophotometrie, und ferner dass normale Farbstoffe, wenn sie in ungewöhnlich grosser Menge auftreten, das Absorptionsverhältniss gegenüber dem des normalen Harns in erheblicher Weise verändern können.

2. Menge des Farbstoffs.

a. Der Harn enthält nur normalen Farbstoff. Da das Absorptionsverhältniss des normalen Harnfarbstoffs oder richtiger der normalen Harnfarbstoffe nicht bekannt ist, so lässt sich auch nicht die absolute Menge des in einem Harn enthaltenen normalen Farbstoffs finden. Da aber ferner die Exstinctionscoefficienten ein und desselben Spectralbezirks bei Lösungen desselben Farbstoffs in verschiedener Concentration der Concentration direkt proportional sind, so lässt sich in verschiedenen Harnen der relative Farbstoffgehalt bestimmen, wenn man die Exstinctionscoefficienten der Harne in einem Spectralbezirk vergleicht. Man wählt dazu einen solchen, in welchem die Lichtabsorption eine starke ist und in welchem verschiedene Harne zugleich die geringste Abweichung vom Gesammtmittel darbieten. Ein solcher ist der Bezirk F 65 G bis F 87 G. Es würde demnach genügen, wenn man Angaben über den Farbstoffgehalt eines normalen Harns zu machen hat, den in diesem Bezirk gefundenen Exstinctionscoefficienten (für eine Schicht von 1 cm Dicke) einfach anzuführen.

b. Der Harn enthält ausser dem normalen Farbstoff noch anderen Farbstoff. Hat man aus dem relativen Exstinctionscoefficienten des untersuchten Harns erschlossen, welcher fremde Harnfarbstoff neben dem normalen

vorhanden sein könnte, so lässt sich versuchen, die Menge des fremden Farbstoffs mit Hilfe der D. 6. gegebenen Gleichungen zu berechnen, indem man für den fremden Farbstoff das wirkliche, für den normalen Harnfarbstoff das relative Absorptionsverhältniss in die Gleichungen einsetzt. Die erforderlichen Zahlenbehelfe sind in der folgenden Tabelle nach Vierordt's Messungen angeführt. Bei dergleichen Bestimmungen wird man sich aber immer gegenwärtig halten müssen, dass dieselben, so lange man die Menge des normalen Harnfarbstoffs nicht sicher zu ermitteln im Stande ist, und die für diese verwendbare Zahl in so weiten Grenzen schwankt, als es der Fall ist, mit nicht unerheblichen Fehlern behaftet sein können. Am Sichersten fallen noch die Bestimmungen bei Versuchen aus, in welchen man den Harn vor dem Auftreten des fremden Farbstoffs spectroskopisch analysiren kann.

Spectralbezirk.	Absorptionsverhältniss: Harn, relatives.	Choletelin.	Hydrobilirubin.	Bilirubin.	Indigo.	Choletelin: Hydrobilirubin.
C 15 D — C 65 D	19,417	4,933	2,072	1,985	0,02931	2,38
D 87 E — E 8 F	12,210	1,189	0,2754	0,8669	0,04467	4,32
E 8 F — E 26 F	10,352	1,069	0,2293	0,6823	0,04738	4,66
E 26 F — E 45 F	9,416	0,9402	0,1492	0,1685	0,04945	6,30
E 45 F — E 63 F	8,628	0,8041	0,0796	0,1142	0,05393	10,10
E 63 F — E 80 F	7,943	0,7240	0,0551	0,05988	0,05604	13,14
E 80 F — F	7,252	0,6167	0,0697	0,03564	0,05723	8.85
F — F 21 G	5,656	0,6037	0,0598	0,01736		10.10
F 21 G — F 44 G	5,013	0,4497	0,1027	0,01216	—	4.38
F 44 G — F 65 G	4,301	0,3381	0,1181	0,01145	0,07954	2,86
F 65 G — F 87 G	3,548	0,2787	0,1494	0,01053	—	1,87
F 87 G — G 10 H	3,032	0,2595	0,1809	0,00983	—	1,43

Das Absorptionsverhältniss ganz reinen krystallisirten Indigos bestimmte Fr. Müller[1]) für den Spectralbezirk C 52 D — C 95 D zu 0,0594.

Gegen die Regel ist für das angegebene Absorptionsverhältniss die Concentration nicht zu 1 g Substanz im cc, sondern zu 1 mg im cc angenommen worden. Diese geringere Concentration dürfte den vorkommenden Verhältnissen besser entsprechen, als die von der Regel geforderte. Nimmt man die Concentration zu 1 g im cc, so vermindert sich das in der Tabelle angegebene Absorptionsverhältniss auf 1/1000.

Das Absorptionsverhältniss (1 g im cc) des Sauerstoffhämoglobins vom Hund wurde von v. Noorden, Hüfner und Otto in D 32 E — D 53 E mit dem Hüfner'schen Apparat zu 0,001 324, 0,001 477 und 0,001 880; in D 63 E — D 84 E zu 0,001 000, 0,001 110, 0,001 403 bestimmt. Die Quotienten der Absorptionsverhältnisse liegen einander aber sehr nahe, sie sind 1,324, 1,330 und 1,340. Hüfner hat später das Absorptionsverhältniss an der dunkelsten Stelle des Streifens B (zwischen λ 531,5 und λ 542,5) und an der zwischen beiden Streifen gelegenen Stelle zwischen λ 554 und λ 565 bestimmt und den Quotienten für Schwein, Rind und Kaninchen nicht unter 1,578 gefunden. Dreser[2]) fand ihn für die Spectralgegenden λ 535 — λ 546 und λ 557 — λ 568 für Kaninchenblut zu 1,577, für Menschenblut zu 1,557.

---

[1]) Fr. Müller, Mittheilungen aus der med. Klinik zu Würzburg 2. 344. 1886.

[2]) Hüfner, Du Bois' Archiv 1894. 132. — H. Dreser, Archiv f. exper. Pathol. 29. 122 u. 133.

§ 57. Einige einfache chemische Operationen und Geräthe.

Zum Sammeln und Trocknen mancher Niederschläge, welche gewogen werden sollen, eignen sich in ausgezeichneter Weise die Ludwig'schen Glaswollfilter (Fig. 44). Sie bestehen aus dünnwandigem Glas und sind in verschiedenen Grössen zu haben; für die gewöhnlichen analytischen Zwecke genügen zwei Sorten. kleinere, an welchen der cylindrische Körper 2 cm weit und bis zur Basis der konischen Spitze 3 cm lang ist, und grössere, die 2,2 cm weit und 3,5 cm lang sind. Der hohle Stopfen ist luftdicht eingeschliffen. Wenn sie gebraucht werden sollen, wird das konische Ende bis gegen die verengte Stelle im Schnabel mit einem Bausch feinster Glaswolle dicht gestopft; man spült dann das Filter zur Entfernung lose sitzender Bruchstücke der Glaswolle mehrmals mit Wasser durch, verdrängt das Wasser durch Alkohol und trocknet das Filter offen bei 110°. Nachdem es im Exsiccator erkaltet ist, wird es gewogen und ist für den Gebrauch fertig. Zum Trocknen stellt man den Trichter im Trockenschrank senkrecht in ein durchlochtes Blech.

Fig. 44.



Geeignet ist nur solche Glaswolle, welche nach dem Zusammendrücken nicht wieder ihre alte Form annimmt, ohne beim Drücken sogleich in kleine Stücke zu zerbrechen.

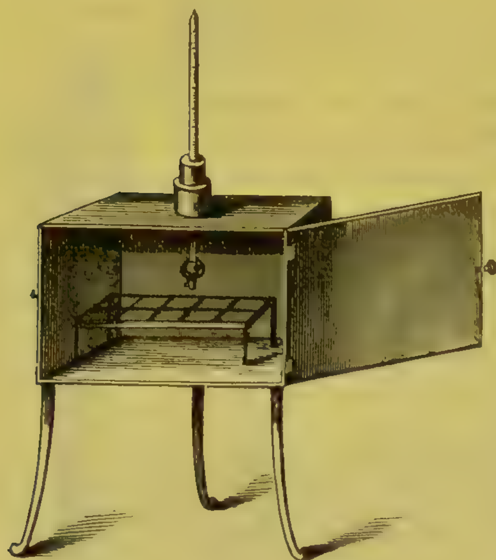
Vor den Papierfiltern hat dieses Filter den Vorzug, dass sich die Niederschläge sehr schnell und unter Verwendung von nur wenig Flüssigkeit waschen lassen, dass die Niederschläge sehr schnell trocken werden, ohne dass das Filtermaterial sein Gewicht verändert, und dass sich selbst sehr hygroskopische Substanzen direkt im Trichter wägen lassen. Dagegen werden feine Niederschläge vom Glaswollfilter nicht zurückgehalten und können Aschebestimmungen in organischen Niederschlägen nicht ausgeführt werden. Die Trichter lassen sich aber auch sehr gut zum Trocknen und Wägen gewöhnlicher Papierfilter verwenden. Man trocknet das in einen konischen Trichter gepasste Filter im leeren Glaswolltrichter, legt das Filter dann wieder in den konischen Trichter, sammelt und wäscht den Niederschlag in gewöhnlicher Weise, trocknet oberflächlich und bringt das Filter mit dem Niederschlag in den Glaswolltrichter zurück. Das Trocknen erfolgt so viel schneller als im Trockengläschen.

Zum Füllen der Trichter lässt sich Verbandwatte nicht verwenden, das Filter wird nicht dicht genug, wohl aber Asbestwolle. Man rollt sie zwischen den Fingern zu einer lockern Kugel von der Grösse, dass sie gerade in den Trichter hineinpasst, trocknet und wägt sie im Rohr. Dann benetzt man sie im Rohr mit Wasser, drückt sie mit dem Finger sanft auf den Boden und ermittelt die Geschwindigkeit, mit welcher das Wasser durchgesogen wird; es muss Tropfen um Tropfen in schneller Folge abfliessen. Wie bei der Glaswolle gehen auch hier feine Theile in das Filtrat über. Das lässt sich verhindern dadurch, dass man in die Spitze des Trichters über der verengten Stelle einen nicht zu lockern und nicht zu festen Pfropf Verbandwatte bringt, der natürlich mit getrocknet und mitgewogen wird. Die Splitter im Filtrat filtrirt man auf dem fertigen Filter ab. Vor dem Gebrauch muss die Asbestwolle gewaschen werden, was man mit einer grösseren Menge vornimmt. An Säuren giebt Asbestwolle eine beträchtliche Menge Substanz ab. Für das Sammeln von Niederschlägen aus sauren Flüssigkeiten muss die Asbestwolle mit Salzsäure ausgekocht und säurefrei gewaschen werden. Man hebt sie in feuchtem Zustand auf.

Auch Glaswolle giebt an Säuren etwas Substanz ab, aber so wenig, dass man bei Bestimmungen, welche nicht höchste Genauigkeit erfordern, den Verlust nicht zu beachten braucht. Ein in dieser Hinsicht völlig einwurfsfreies Füllmaterial ist nicht bekannt.

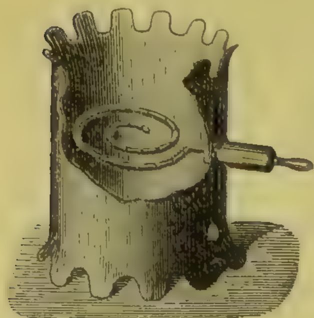
Das Trocknen von Niederschlägen u. dergl. nimmt man in Trockenkästen (Luftbädern) (Fig. 45) vor. Sie sind aus Kupferblech angefertigt und zweckmässig innen verzinnt. Man heizt sie mit einem einfachen Gasbrenner oder einem Gasofen an. Ein Thermometer zeigt die im Kasten herrschende Temperatur an. Der Gegenstand, welcher getrocknet werden soll, wird nicht direkt auf den Boden, sondern auf den im Kasten befindlichen Rost gelegt.

Fig. 45.



Derartige Trockenkästen giebt es in verschiedener Grösse und von verschiedener Form. Man hat solche mit doppelten Wänden construirt, deren Zwischenraum mit Wasser oder einer Salzlösung oder mit Oel gefüllt werden kann. Sie heizen sich langsamer an, halten aber die Temperatur constanter; in den mit Wasser oder mit Salzlösungen gefüllten steigt die Temperatur nicht über den Siedepunkt der betreffenden Flüssigkeit und sie bedürfen deshalb keiner Ueberwachung; die mit Oel gefüllten lassen sich auf höhere Temperaturen bringen und die Temperatur schwankt in ihnen langsamer. Von besonderem Werthe sind Luftbäder, in deren doppelter Wand die erwärmte Luft circulirt, wie solche von L. Meyer construirt worden sind; in ihnen ist die Temperatur in den oberen Theilen des Kastens nur sehr wenig von denen in den unteren verschieden, während dies bei den Luftbädern mit einfacher Wand nicht der Fall ist. Auch kann das Luftbad so eingerichtet sein, dass erwärmte Luft unter dem Boden in den Kasten tritt und ihn oben wieder verlässt; der Luftstrom entfernt den Wasserdampf und das Trocknen erfolgt schneller. Ventilirbare Trockenkästen hat sich die Firma Kaehler und Martini[1]) in Berlin patentiren lassen. Durch sog. Temperaturregulatoren (Thermostaten), welche den Gaszutritt zur Lampe nach der dem Kasten ertheilten Temperatur regeln, kann man sich bis zu einem gewissen Grade von den Temperaturschwankungen unabhängig machen, welche durch das Schwanken des Gasdrucks hervorgerufen werden.

Fig. 46.



Eine sehr zweckmässige Form der Gasöfen ist folgende.

Das Gas strömt aus engen Löchern des Schlangenrohrs aus, und brennt mit leuchtender Flamme. Die Brennerschlange ist in dem auf der rechten Seite sicht-

---

1) L. Meyer, Berichte der chem. Gesellsch. **16**. 1087. 1883. — M. Kaehler, Berichte d. chem. Gesellsch. **25**. 3612; Ztschr. f. analyt. Ch. **32**. 591.

baren Schlitz des Ofenmantels nach oben und unten vorstellbar, in den kantigen Griff des Ofens ist auf der dem Ofen zugekehrten Seite eine Schraubenmutter eingelassen, welche in eine auf dem Brennerstiel eingeschnittene Schraubenwindung eingreift. Diese Vorrichtung gestattet, die Wand des Ofens zwischen den Griff und eine auf der Innenseite des Ofens befindliche, am Brennerrohr befestigte Scheibe zu klemmen und so das Schlangenrohr festzustellen. Diese Art Oefen haben vor anderen Gasöfen den Vortheil, dass man die Flammen beliebig klein machen kann, ohne dass sie zurückschlagen, andererseits die Flammen dem Gegenstand, den man auf den Ofen gestellt hat, so weit zu nähern, als man zweckmässig findet. Diese schon vor 1860 in England gebrauchten Oefen sind von Volhard[1]) in Deutschland eingeführt worden.

Die Trockengläschen, wie deren eins Fig. 47 abgebildet ist, dienen zur Aufnahme hygroskopischer Substanzen während des Trocknens und Wägens.

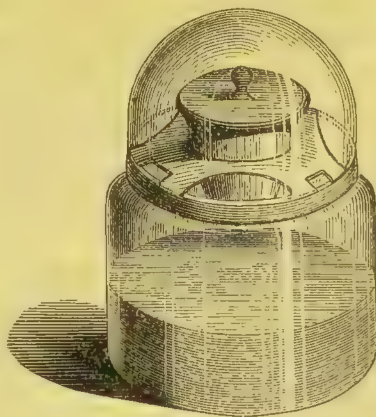
Sie sind aus dünnwandigem Glas angefertigt, der Stöpsel ist hohl und gut eingeschliffen. Im Trockenkasten ist das Gläschen selbstverständlich offen, auf der Wage verschlossen; vor dem Wägen lässt man es im Exsiccator erkalten. Es giebt schmale und hohe, sowie breite und niedrige Trockengläschen.

Fig. 47.



Kleinere Gegenstände, wie Tiegel, Schalen, welche vor dem Zutritt der Luftfeuchtigkeit geschützt werden sollen, bewahrt man besser in kleinen büchsenförmigen Exsiccatoren (Fig. 48) auf, als in den grossen aus Glasplatte und Glocke (Fig 51) bestehenden.

Fig. 48.



Der Deckel greift über den Rand des Gefässes über, schliesst dort aber nicht fest, sondern ist mit seinem unteren Rand auf das Gefäss aufgeschliffen. Der Deckel wird an der unteren Fläche gefettet. Im Gefäss befindet sich concentrirte Schwefelsäure, Chlorcalcium oder eine andere hygroskopische Substanz. Der Träger des Gegenstandes kann verschiedene Formen besitzen, z. B. ein gläserner Dreifuss sein. Es giebt auch derartige Exsiccatoren, die sich durch einen angeschmolzenen Glashahn luftleer pumpen lassen.

Die Lieben'sche Muffel leistet gute Dienste beim Abrauchen kleiner Mengen schwer flüchtiger Flüssigkeiten, z. B. Säuren, unter Verhütung eines Verlusts durch Verspritzen.

Sie besteht aus gebranntem Thon, ist 24 cm lang, 16 cm breit und 9 cm hoch, hat ein flach gewölbtes Dach und ist rückwärts durch eine Wand geschlossen. In der Mittellinie des Bodens befinden sich zwei Löcher, das eine, von seinem Centrum aus gemessen 4 cm, das andere ebenso 13 cm von der Rückwand entfernt; das der Rück-

---

[1]) Volhard, Journ. f. prakt. Ch. [2] 9. 1874; Ann. d. Ch. 198. 330.

wand nähere hat einen Durchmesser von 1,5, das entferntere von 4 cm. In den Seitenwänden, ungefähr in der Mitte der Längsrichtung, sind 2 cm vom Boden entfernt Zugöffnungen in der Form 2 cm langer und 1 cm breiter Schlitze angebracht. In das grössere Loch im Boden kommt der offene Tiegel, aus welchem man abrauchen will, um ihn nicht zu beschmutzen, in einem Porzellantiegel von passender Grösse. Durch das kleinere Loch wird ein Gasbrenner eingeführt, so dass er gerade über dem Boden sichtbar ist. Der Vortheil der Muffel besteht darin, dass die Flüssigkeit nicht von unten, sondern durch die von der glühenden Decke ausstrahlende Wärme von oben erhitzt wird. Man hat für jede Flüssigkeit (Salpetersäure, Schwefelsäure) auszuprobiren, wie stark das Dach erhitzt werden muss, damit sie schnell verdampft, ohne zu spritzen; dann verläuft aber das Abrauchen gefahrlos.

Der S. 185 abgebildete Aetherextractionsapparat nach Schwarz lässt sich mit Vortheil zu vielen Extractionen mit Aether verwenden. Vor dem Ausschütteln mit Aether besitzt er den Vorzug, dass er keine Arbeit braucht, wenn er einmal im Gang ist, der Aether völlig klar abläuft, wenn die Flüssigkeit nicht schäumt und ein und dieselbe kleine Menge Aether zur Erschöpfung der Flüssigkeit ausreicht. Lässt man den Apparat lang genug in Thätigkeit, so ist die Extraction eine sehr vollständige. Nur muss die extrahirte Substanz das längere Erhitzen mit dem Aether aushalten, ohne sich zu zersetzen.

Bei der Herrichtung des Apparates hat man darauf zu achten, dass die Aethersäule (im Ganzen) ungefähr zweimal, mindestens $1^3/_4$ Mal so hoch sein muss, als die Flüssigkeit, welche extrahirt werden soll, sonst läuft der zurückdestillirte Aether durch das obere, statt durch das untere Querrohr wieder in den Kochkolben zurück, ehe er durch seine eigene Schwere durch die Flüssigkeit hindurchgedrückt worden ist.

Der ursprüngliche Apparat von Schwarz besitzt eine andere Form als der abgebildete, auf demselben Princip beruhende. Diepolder beschreibt den modificirten als neu und hat ihn patentiren lassen. Er ist aber schon viele Jahre in Gebrauch und u. A. schon von Drechsel[1]) angegeben und in ähnlicher Gestalt abgebildet worden.

B. Besondere Methoden.

§ 58. Bestimmung der Harnmenge.

Die Menge des in einer gewissen Zeit gelassenen Harns lässt sich in zweierlei Weise bestimmen, nämlich durch Messen oder durch Wägen.

a. Durch Messen. Zum Abmessen des Harns bedient man sich der Fig. 21 S. 641 abgebildeten graduirten Cylinder.

b. Durch Wägen. Das Volumen grösserer Harnmengen bestimmt sich richtiger durch Wägen als durch Messen, vorausgesetzt, dass die

---

[1]) E. Diepolder, Berichte der chem. Gesellsch. **30.** 1797. 1897. — E. Drechsel, Anleitung zur Darstellung physiologisch-chemischer Präparate. Wiesbaden 1889. 30.

Gewichte, deren man sich bedient, mit den Maassgefässen übereinstimmen. Wägt man auf einer Wage, welche noch 1 g angiebt, das Gefäss mit dem Harn, und zieht von dem Gesammtgewicht das Gewicht des trockenen Gefässes ab, so erfährt man das Gewicht des Harns bis auf 1 g. Auf das Volumen lässt sich das Gewicht leicht umrechnen, wenn man die Dichtigkeit oder das spec. Gewicht des Harns kennt; denn die Dichtigkeit giebt das Gewicht eines Volumens Flüssigkeit, bezogen auf das Gewicht des gleichen Volumens Wasser, an; hat ein Harn z. B. eine Dichtigkeit von 1,010, so wiegt ein Liter desselben 1010 g.

Man wägt das Gefäss mit dem Harn durch Substitution. Dazu stellt man auf die eine Schale der Wage einen Gegenstand, z. B. ein Gewicht, das schwerer ist als das Gefäss mit dem Harn, welches man wägen will, und legt zu dem Gefäss auf der anderen Schale noch so viel Gewicht, bis das Gleichgewicht beider Schalen hergestellt ist. Man nimmt dann das Gefäss von der Wage und stellt durch Auflegen von Gewicht für das Gefäss das Gleichgewicht wieder her. So viel man Gewicht gebraucht hat, um das Gleichgewicht wieder herzustellen, so viel wiegt das Gefäss mit dem Harn. Beim Wägen mittelst Substitution erfährt man das Gewicht eines Körpers genauer, als durch Wägen in gewöhnlicher Weise, weil die Wagen nur selten, die gewöhnlichen überhaupt nicht, gleichschenklig sind.

Bestimmung anorganischer Substanzen.

§ 59. Bestimmung des Wassers.

1. Den Gehalt des Harns an Wasser erfährt man durch Verdunsten einer abgewogenen oder abgemessenen Menge Harn bis zur völligen Trockne und Wägen des Rückstandes. Die Bestimmung lässt sich jedoch nicht ohne Weiteres in dieser Weise ausführen, denn beim Verdunsten des Harns zersetzt sich der Harnstoff zu kohlensaurem Ammon (§ 32. B. 11; S. 300), das Ammoniak desselben wird aber, während die Kohlensäure entweicht, vom zweifach sauren Phosphat gebunden, von diesem aber wieder bei 100° abgegeben; der Harn verliert also nicht blos das Wasser, sondern auch Harnstoff in der Form von Kohlensäure und Ammoniak. Richtig fällt dagegen, wie Neubauer[1]) gezeigt hat, die Bestimmung aus, wenn man ausser dem Gewichtsverlust noch die Menge des entweichenden Ammoniaks ermittelt und dieses, als Harnstoff berechnet, vom Gesammtgewichtsverlust abzieht. Das Ammoniak wird in verdünnter Schwefelsäure aufgefangen und durch Titriren bestimmt.

Zur Ausführung der Analyse bediente sich Neubauer des in Fig. 49 abgebildeten Apparates.

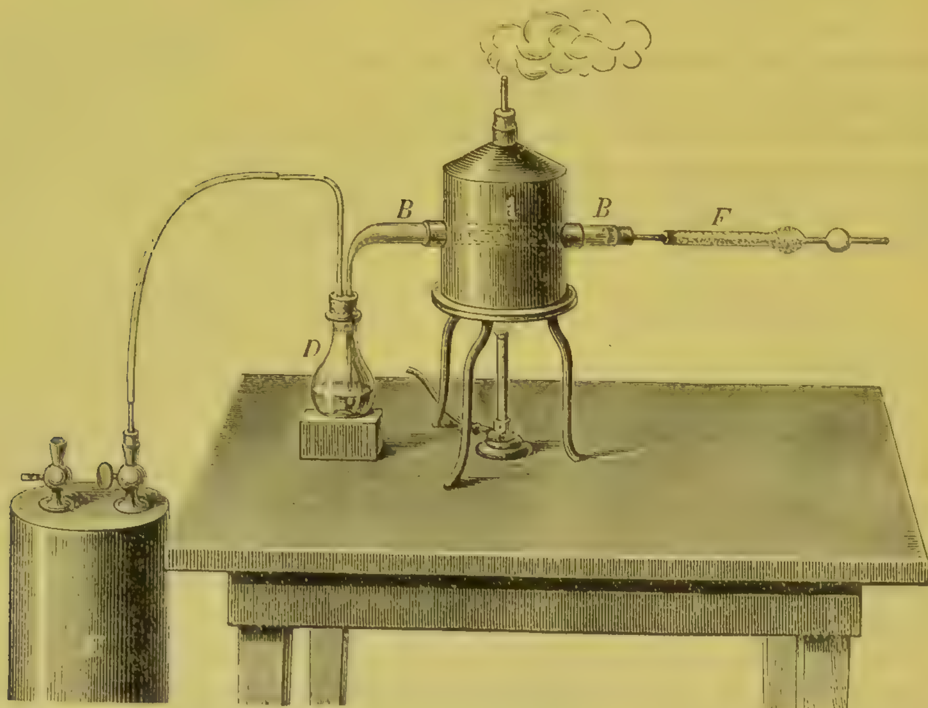
A ist ein Wasserbad von 12 cm Höhe und 11 cm Breite, durch welches etwa in der Mitte eine Blechröhre von $2^1/_2$—3 cm Durchmesser geht. In dieses Blechrohr kann die Glasröhre BB von der abgebildeten Form leicht eingeschoben

[1]) Neubauer, Arch. f. wissensch. Heilk. 4. 228. 1859; Ztschr. f. analyt. Ch. 1. 166.

werden, in welcher sich das zur Aufnahme des Harns bestimmte Porzellanschiffchen von 7—8 cm Länge und 1,4 cm Breite befindet. An die Glasröhre BB ist an dem einen Ende das Chlorcalciumrohr F mittelst eines Korks angeschlossen, während der ausgezogene und umgebogene Theil durch einen doppelt durchbohrten Kork mit dem Kölbchen D, worin sich die titrirte Schwefelsäure befindet, in Verbindung steht. Der ausgezogene Schenkel der Röhre BB reicht bis fast auf den Boden des Kölbchens. Durch die zweite Durchbohrung des Korkes ist das Kölbchen D mit dem Aspirator E oder einer Wasserluftpumpe in Verbindung gesetzt.

Nachdem man in das Kölbchen genau 10 cc $^1/_{15}$ normale Schwefelsäure (vergl. S. 655) gefüllt hat, setzt man den Kork mit den zwei Glasröhren gut auf, steckt das Rohr BB durch die Hülse des Wasserbads und verbindet das Kölbchen mit dem Aspirator E. Schon vorher hat man das Porzellanschiffchen zu $^2/_3$ mit

Fig. 49.



groben Glassplittern gefüllt, bei 100° getrocknet und nachdem es im Exsiccator über Schwefelsäure erkaltet war, gewogen; dazu hat man das Schiffchen mit den Glassplittern in ein dünnwandiges Glasrohr gleiten lassen und das Rohr mit einem gut passenden weichen, mit Staniol überzogenen Kork verschlossen. Man misst nun in das Schiffchen aus einer Burette genau 2 cc Harn, schiebt das Schiffchen in das Rohr BB, setzt das Chlorcalciumrohr auf und heizt das Wasserbad an. Wenn das Wasser ins Sieden kommt, öffnet man den Hahn des Aspirators, und lässt nun, nachdem man sich überzeugt hat, dass der Apparat luftdicht schliesst, die im Chlorcalciumrohr getrocknete Luft mit einer solchen Geschwindigkeit über das Schiffchen streichen, dass etwa jede Secunde eine Luftblase durch die Schwefelsäure im Kölbchen entweicht. Nach 3 Stunden unterbricht man den Luftstrom, nimmt das Chlorcalciumrohr ab, zieht das Rohr BB aus dem Wasserbad und lässt das Schiffchen in das Glasrohr gleiten, in welchem es gewogen worden war. Dieses wird sogleich wieder mit dem Kork verschlossen, im Exsiccator über Schwefelsäure (2 Stunden) erkalten gelassen und gewogen. Man erfährt so die gesammte Gewichtsabnahme.

Darauf schreitet man zur Bestimmung des entwickelten Ammoniaks. In dem Rohr BB findet sich in den meisten Fällen ein Sublimat von kohlensaurem Ammon, welches nicht verloren gehen darf; man löst den Kork aus dem Kölbchen, spült das Sublimat aus dem Rohr in das Kölbchen, spritzt auch die Spitze des Rohrs, welche in die Schwefelsäure tauchte, äusserlich ab, färbt dann die Säure im Kölbchen mit einigen Tropfen wässriger Methylorangelösung roth und titrirt mit gleichfalls $^1/_{15}$ normaler Natronlauge bis zu Gelb zurück. Man erfährt so diejenige Menge Schwefelsäure in Cubikcentimetern, die an Ammoniak gebunden ist; jeder dieser Cubikcentimeter entspricht 2 mg Harnstoff. Die so gefundene Harnstoffmenge wird von dem Gesammtgewichtsverlust abgezogen. Der Rest ist das Gewicht Wasser, welches die 2 cc Harn verloren haben.

2. Annähernd lässt sich nach Neubauer[1]) auch die Gesammtmenge der im Liter Harn enthaltenen festen Bestandtheile berechnen, wenn man die Dichte des Harns bis auf 4 Decimalen bestimmt und die letzten 3 Stellen mit dem von Haeser ermittelten Coefficienten 0,233 multiplicirt. Die Rechnung stimmte im Mittel von 26 Einzelbestimmungen bis auf 3 %, mit Schwankungen von 0,2—6 %, mit den nach 1 erhaltenen Resultaten überein.

§ 60. Bestimmung der feuerbeständigen Salze.

Zur Bestimmung der Gesammtmenge der im Harn enthaltenen feuerbeständigen Salze darf man den Harn nicht direct veraschen, weil man sonst ganz erhebliche Verluste erleiden würde. Die Chloride der Alkalien sind in der Glühhitze flüchtig, die Sulphate werden durch die gebildete Kohle zu Sulphiden reducirt und die zweifach sauren Phosphate unter Entwicklung von Phosphordämpfen zersetzt. Man verfährt vielmehr so, dass man den Harn blos verkohlt, der Kohle die löslichen Salze durch Wasser entzieht, dann erst die Kohle verascht, die Salzlösung auf der Asche verdunstet und den Rückstand vorsichtig trocknet.

Es werden 10 cc Harn in einem gewogenen Platintiegel oder in einer kleinen mit Deckel versehenen Platinschale bei einer 100° nicht übersteigenden Temperatur (im Trockenkasten oder Wasserbad) möglichst weit eingedampft, dann der Tiegelinhalt über einer kleinen Gasflamme vorsichtig, so dass kein Verspritzen und kein Ueberschäumen stattfindet, vollends vom Wasser befreit. Steht eine Lieben'sche Muffel (S. 699) zur Verfügung, so nimmt man diesen Theil der Operation zweckmässig in ihr vor. Dabei hat schon theilweise Verkohlung stattgefunden. Man vollendet sie, indem man den offenen Tiegel über der Flamme weiter vorsichtig erhitzt. Die Masse schwillt stark an und entwickelt Dämpfe, welche man zur Beschleunigung der Verkohlung anzündet. Dabei steigt der Tiegelinhalt stark in die Höhe. Man erhitzt so lang, bis die geblähte Masse wieder fest geworden ist und sich keine brennbaren Dämpfe mehr entwickeln. Der Boden des Tiegels darf dabei nur zuletzt vorübergehend glühend werden. Nach dem Erkalten füllt man den Tiegel mit heissem Wasser nahezu ganz an, filtrirt nach einigem Stehen durch ein aschefreies Filter ab, indem man möglichst viel von der Kohle im Tiegel lässt. Beim Uebergiessen der Flüssigkeit auf das Filter legt man einen breiten Glasstab an den Tiegel an; trotzdem kann Flüssigkeit aussen am Tiegel herabfliessen. Damit man diese nicht verliert, wodurch die Analyse verloren wäre, stellt man

---

[1]) Neubauer, Archiv f. wissensch. Heilk. 5. 319. 1860.

eine kleine Schale neben dem Trichter so auf, dass diese die nebenbei fliessende Flüssigkeit aufnehmen kann. Das Auswaschen der Kohle nimmt man 10—20 mal vor. Das Filtrat wird in einer Platinschale im Wasserbad auf ein kleines Volumen eingedampft, das Filter aber mit dem in ihm enthaltenen Antheil der Kohle in den Tiegel gebracht, das Wasser im Trockenkasten bei 100° verjagt und der Tiegelinhalt weiss gebrannt. Dann giesst man die Flüssigkeit aus der Schale in den Tiegel, spült die Schale sorgfältig nach und verdunstet das Wasser im Trockenschrank. Der letzte Rest Wasser wird bei bedecktem Tiegel über der freien Flamme weggetrieben. Die Flamme darf dabei nicht so gross sein, dass der Boden des Tiegels roth wird, aber nahezu so gross. Kommt der Tiegelboden auch nur kurze Zeit in schwaches Glühen, so beschlägt sich der Tiegeldeckel mit einem weissen Anflug von Alkalichloriden und die Analyse ist verloren. Häufig ist das Waschwasser braun und der Tiegelinhalt nach dem Trocknen dann auch. Er lässt sich aber ganz gut weiss brennen, wenn man den bedeckten Tiegel lang genug (1 Stunde oder länger) über einer so kleinen Flamme stehen lässt, wie beim letzten Trocknen. In Parallelanalysen ergeben sich bei guter Ausführung des Verfahrens erst in den Decimilligrammen Abweichungen.

§ 61. Bestimmung der Säuren.

A. Acidität.

Man hat versucht, die Acidität des Harns mittelst eines Indicators acidimetrisch zu bestimmen. Die Reaction des Harns ist wesentlich bedingt durch Phosphate. Da es kein gegen Lackmus neutrales Phosphat giebt (S. 29), so ist Lackmus als Indicator nicht zu brauchen. Nun kann man zwar die einzelnen Phosphate mit Hilfe anderer Indicatoren titriren, allein bei diesen ist der Farbenumschlag in dem gefärbten Harn keineswegs sicher zu bestimmen. Abgesehen hiervon wird das Verfahren aber durch einen principiellen Fehler werthlos, weil, wie Lieblein[1]) gezeigt hat, auf Zusatz von Lauge zu einer Chlorcalcium enthaltenden Alkaliphosphatlösung ein Calciumphosphat von wechselnder Zusammensetzung ausfällt, die Phosphorsäure also nicht in constantem Verhältniss gesättigt wird. Die Menge der sich so der vollständigen Neutralisation entziehenden Phosphorsäure wird überdem abhängig sein von der Menge des im Harn enthaltenen Erdalkalisalzes.

Statt der Aciditätsbestimmung empfiehlt sich die Bestimmung der Menge der im zweifachsauren Phosphat enthaltenen Phosphorsäure. (dieser §, G).

Cochenille sowie Phenolphtalein werden nach der vollendeten Ueberführung des zweifachsauren Phosphats in einfachsaures durch Lauge roth (S. 30), das von Freund und Toepfer für die Titrirung des Harns empfohlene Alizarinroth bei der Umwandlung von einfachsaurem Phosphat in zweifachsaures durch Säure aus Carminroth gelb, Farben, die sich von der des Harns nicht oder nicht scharf unterscheiden. Entfärben des Harns mit reinster, von Basen freier Thierkohle setzt nach Capranica die Acidität des Harns erheblich herab. Capranica titrirt 2 cc mit Phenolphtalein roth gefärbte 0,1 n Lauge mit Harn bis zur Farbe des mit dem Alkali allein versetzten Harns und bedient sich zum Vergleich

[1]) V. Lieblein, Ztschr. f. physiol. Ch. **20**. 60. 1894.

der Farben eines Colorimeters. Das Verfahren wäre gut, wenn sich nicht Erdalkaliphosphate abschieden. Das von Freund und Toepfer für die Aciditätsbestimmung vorgeschlagene Poirrierblau ist nach Lieblein[1]) sehr unempfindlich. — Lackmuspapier lässt nur dann die amphotere Reaction der Phosphate nicht erkennen, wenn es wenig empfindlich ist.

B. Salzsäure (Chloride, Chlor).

Sämmtliche in Vorschlag gebrachte Verfahrungsweisen haben das mit einander gemeinsam, dass das Chlor mittelst Silbernitratlösung titrirt wird. Die Menge der gefundenen Salzsäure wird als Chlornatrium ausgedrückt.

Die Silbernitratlösung soll mit 1 cc 10 mg Chlornatrium anzeigen. Man bereitet die Lösung in der Weise, dass man chemisch reines krystallisirtes salpetersaures Silber nach vorläufigem Schmelzen in gelinder Hitze (aber nicht in Formen gegossenes Salz) in Wasser löst, so dass die Lösung im Liter 29,042 g Silbernitrat enthält. Bei vorsichtigem Schmelzen bleibt das Silbernitrat schneeweiss.

Man kann sie auch so herstellen, dass man einer Silbernitratlösung eine derartige Concentration ertheilt, dass ein Volumen derselben genau dasselbe Volumen einer Chlornatriumlösung mit 10 g Na Cl im Liter fällt. Eine solche Lösung erhält man u. a., wenn man 15,7 cc einer kalt gesättigten Steinsalzlösung auf 50 cc oder 22 cc der Steinsalzlösung auf 70 cc verdünnt. Man titrirt nach Mohr (II).

Von den verschiedenen Methoden wird der von Volhard und Falck in der Form, welche ihr von Arnold gegeben wurde, wegen der Einfachheit ihrer Ausführung der Vorzug gegeben, in Wirklichkeit nach derselben nicht blos das Chlor, sondern zugleich auch das aber nur in relativ kleinen Mengen im Harn vorhandene Rhodan bestimmt.

I. Verfahren nach Volhard und Falck.

A. Princip. Nach J. Volhard lässt sich Silber in saurer Lösung in der Weise bestimmen, dass man derselben zuerst ein chlorfreies Eisenoxydsalz und darauf soviel von der Lösung eines Rhodansalzes von bekanntem Gehalt hinzufügt, bis die Lösung dauernd roth wird. Wegen der ausserordentlich intensiven Färbung des Eisenrhodanids ist die Endreaction eine sehr scharfe. Einem Vorschlage Volhard's folgend hat Falck dieses Verfahren zur Bestimmung des Chlors im Harn eingerichtet; es wird die Chloridlösung mit Silberlösung von bekanntem Gehalt ausgefällt und das überschüssig zugesetzte Silber mittelst einer Rhodansalzlösung zurücktitrirt. Da sich nach Drechsel[2]) das

---

[1]) E. Freund u. G. Toepfer, Ztschr. f. physiol. Ch. 19. 84. 1894. — St. Capranica, Sulla determinazione dell' acidità totale nelle urine. R. Academia medica di Genova. Genova 1894. — Lieblein, a. a. O. 81.

[2]) J. Volhard, Journ. f. prakt. Ch. [2] 9. 217. 1874. — Ann. d. Chemie 190. 1. 1877. — F. A. Falck, Ber. d. chem. Gesellsch. 8. 12. — E. Drechsel, Journ. f. prakt. Ch. [2] 15. 191. 1877.

Chlorsilber mit dem Rhodanid umsetzt, so ist es nöthig, das Chlorsilber vor dem Zurücktitriren abzufiltriren. Der Harn darf Eiweiss, Albumose, Zucker enthalten (Arnold), aber keine salpetrige Säure. Dieses Verfahren giebt nach Arnold etwas geringere Werthe als II, aber eine sehr gute Uebereinstimmung mit der Titrirung des Chlors in der Harnasche nach Volhard.

Salpetrige Säure oxydirt Rhodanwasserstoff in der Kälte, Salpetersäure in der Wärme.

B. Erfordernisse.

1. **Silberlösung, wie S. 705 angegeben.**

2. **Eisenoxydlösung. Kalt gesättigte Lösung von chlorfreiem krystallisirten Eisenammonalaun (löst sich in 3 Theilen Wasser von 15°) oder reine Lösung von schwefelsaurem Eisenoxyd mit ungefähr 50 g im Liter.**

3. **Chlor- und salpetrigsäurefreie Salpetersäure** von ungefähr 1,2 Dichte. Ist chlorfreie Salpetersäure nicht zu haben, so destillirt man sie nach Zusatz von salpetersaurem Silber aus einer Retorte direct in die Vorlage. Von salpetriger Säure befreit man die Salpetersäure dadurch, dass man sie mit reinem Harnstoff kurze Zeit erwärmt.

4. **Lösung von Rhodanammon. Die Lösung soll im Liter 12,984 g** enthalten. Da man das Salz wegen seiner hygroskopischen Beschaffenheit nicht genau abwägen kann, so bereitet man eine concentrirtere Lösung und stellt diese auf die Silberlösung. Zu diesem Zwecke misst man 20 cc der Silberlösung ab, setzt 5 cc der Eisenlösung hinzu und darauf tropfenweise so lange reine Salpetersäure, bis die Mischung farblos erscheint. Lässt man hierauf aus einer Burette die Rhodanammonlösung zufliessen, so erzeugt jeder Tropfen derselben zuerst eine blutrothe oder licht bräunliche Färbung, die aber beim Mischen sofort wieder verschwindet. Ist endlich alles Silber als Rhodansilber gefällt, so erzeugt der nächste Tropfen der Rhodanammonlösung eine bleibende Färbung der Flüssigkeit, wodurch das Ende des Versuchs angezeigt wird. Man verdünnt die Rhodanlösung dann so, dass zur Fällung eines Volumens der Silberlösung genau dasselbe Volumen Rhodanlösung verbraucht wird. Die Lösung behält in verschlossenem Gefässe jahrelang ihren Titer unverändert.

Viel Salpetersäure kann wenig Eisenrhodanid entfärben; man wendet daher das Eisensalz in starkem Ueberschuss an. Dann ist aber die Farbe des Eisenrhodanids (die Endreaction) nicht blutroth, sondern leicht röthlichbraun.

Das Rhodansalz soll chlorfrei oder mindestens chlorarm sein. Bei Verwendung von chlorfreiem Rhodanid bleibt die Endreaction bestehen, während sie mit chlorhaltigem Salz anfangs beim Umschütteln wieder verschwindet und nur bei einem Ueberschuss von Rhodanid dauernd wird. Da das käufliche Rhodanammon in der Regel entweder gar kein Chlor oder doch weniger enthielt, als das Kalisalz, so ist das Ammonsalz vorzuziehen. Es lässt sich übrigens durch Umkrystallisiren aus heissem Wasser vom Chlor befreien. Die Gegenwart von Chlor erkennt man schon an der eben erwähnten Verzögerung, mit welcher die Endreaction eintritt; beseitigt man sie durch einen Tropfen sehr verdünnter Silberlösung (0,1 normaler: die zur Chlorbestimmung dienende ist 1,71 normal), so giebt das farblose Filtrat mit mehr Silbernitrat einen Niederschlag von Chlorsilber.

C. Ausführung. Falck hat den Harn verascht und das Chlor in der salpetersauren Lösung der Schmelze titrirt. Diese umständliche und zeitraubende Vorbereitung des Harns ist aber überflüssig; nach den Bestimmungen von Arnold erhält man mit Harn direct genau dieselben

Resultate, wie mit der nach II. C. a. bereiteten Harnasche. Bei der directen Titrirung des Harns kann nur die Schwierigkeit entstehen, dass sich der Harn beim Ansäuern mit Salpetersäure roth färbt, wodurch die Endreaction unsicher werden würde; diese Färbung lässt sich aber durch einige Tropfen concentrirter Permanganatlösung (1 : 30) beseitigen.

a. Verfahren nach Arnold[1]. Man bringt in ein auf 100 cc geaichtes Kölbchen 10 cc Harn, setzt 20—30 Tropfen Salpetersäure, dann 2 cc Eisenammonalaun sowie, wenn nöthig, tropfenweise eine 8 - 10 procentige Permanganatlösung zu, bis dasselbe nicht mehr schnell verschwindet und der Harn hell weingelb geworden ist. Man lässt dann unter Umschwenken so lange aus einer Burette von der Silberlösung zufliessen, bis man sicher ist, dass kein Niederschlag mehr entsteht, füllt bis zur Marke mit Wasser auf, filtrirt nach dem Umschütteln durch ein trockenes Faltenfilter und verwendet 50 cc vom Filtrat zur Titrirung mit Rhodanammon bis zur bleibenden Rothfärbung der Flüssigkeit. Das verbrauchte Volumen Rhodanammonlösung wird von dem Volumen der zugesetzten Silberlösung abgezogen und für jeden Cubikcentimeter des Restes 10 mg Na Cl in Rechnung gebracht.

Dass man den Harn mit der Silberlösung ausgefällt hat, erkennt man daran, wenn ein an der Wand des Kölbchens herabgelaufener Tropfen keinen Niederschlag mehr giebt, oder wenn die Rothfärbung, welche auf Zusatz eines Tropfens Rhodanlösung eintritt, nicht mehr allmählich, sondern sofort verschwindet; das zur Prüfung verbrauchte Volumen Rhodanlösung rechnet man dem hinzu, welches für das Rücktitriren der Silberlösung erforderlich ist.

Das Verfahren ist, wie auf Menschenharn, auch anwendbar auf den Harn des Schweins und der Pflanzenfresser, aber nicht auf Hundeharn. Nicht ganz frischer Harn ist auf salpetrige Säure zu prüfen. Einen Gehalt an salpetriger Säure erkennt man daran, dass der mit etwas Salpetersäure und Eisenammonalaun vermischte Harn auf Zusatz eines Tropfens Rhodanlösung nicht roth wird. Die salpetrige Säure wird durch Aufkochen des Harns mit Salpetersäure entfernt und der Harn nach dem Erkalten titrirt.

Icterischen Harn, der durch seinen Farbstoff die Schärfe der Bestimmung beeinträchtigen kann, entfärbt man nach Modigliano[2] in der Weise, dass man ihn auf den cc mit 2 Tropfen Salpetersäure und 2 Tropfen einer 4proc. Permanganatlösung versetzt, erwärmt oder 3—4 Minuten stehen lässt und das Filtrat verwendet. Der durch den Zusatz der Reagentien verursachten Verdünnung ist Rechnung zu tragen.

b. Verfahren nach Salkowski[3]. Zu 10 cc Harn setzt man 50—60 cc Wasser, 4 cc Salpetersäure von 1,2 Dichte, 10—15 cc Silberlösung, füllt auf 100 cc auf, filtrirt nach dem Umschütteln, versetzt 80 cc des Filtrats mit 5 cc der Eisenalaunlösung und titrirt mit der Rhodanlösung zurück. — Wird der Harn auf Zusatz der Salpetersäure roth, so entfärbt man ihn mit Permanganatlösung; ein Ueberschuss an Permanganat lässt sich durch Rohrzucker beseitigen. Salkowski fand das Verfahren geeignet für Menschen- und Kaninchenharn.

---

[1] C. Arnold, Ztschr. f. physiol. Ch. **5**. 81. 1881; Pflüger's Archiv **35**. 541. 1885.

[2] E. Modigliano, La sperimentale; Chem. Centralbl. 1889. **1**. 393.

[3] E. Salkowski, Ztschr. f. physiol. Ch. **5**. 290. 1881.

c. Corvi[1]) titrirt das überschüssige Silber nicht mit Rhodansalz, sondern in Gegenwart eines Tropfens Ferrisulphat mit einer auf die (0,1 n) Silberlösung gestellte Ferrocyankaliumlösung zurück. Erst wenn alles Silber ausgefällt ist, tritt, durch Bildung von Berliner Blau, dauernde Blaufärbung ein.

d. Das Verfahren von Bödtker, bei welchem der Silberüberschuss mit Kochsalzlösung zurücktitrirt wird, unter II. C. d.

e. Verfahren nach Gruber und nach v. Mering. Aus Hundeharn fallen wegen seines Gehalts an unterschwefliger Säure, Rhodanwasserstoff u. s. w. ausser dem Chlorsilber noch andere Silberverbindungen (Schwefelsilber, Rhodansilber u. s. w.) und die Bestimmung wird darum falsch. Salkowski beseitigt den Fehler dadurch, dass er 10 cc Hundeharn mit 25 cc Wasser, 25 cc Salpetersäure und 10 cc Silberlösung versetzt und so lange kocht, bis der Silberniederschlag weiss geworden ist. Nach dem Erkalten wird die Mischung auf 100 cc verdünnt und nach b. weiter behandelt. — Um der Belästigung durch die Salpetersäuredämpfe zu entgehen, beseitigt Gruber die störenden Substanzen durch Reduction. Es werden 10 cc Hundeharn oder mehr auf das 2—3 fache verdünnt, mit 5 cc auf das 20 fache verdünnter Schwefelsäure und einigen Stücken granulirtem Zink versetzt und $^1/_4$—$^1/_2$ Stunde auf 40—50° erwärmt. Alsdann giesst man die von ausgeschiedenem Schwefel trübe Flüssigkeit vom Zink ab, spült mit Wasser nach und verfährt nach dem Erkalten nach b. — v. Mering erwärmt 20 cc Hundeharn nach Zusatz von 60 cc Wasser, 5—8 g chlorfreiem Zinkstaub und 10—15 cc auf das 5 fache verdünnter Schwefelsäure eine Stunde auf dem Wasserbad, filtrirt heiss, wäscht den Niederschlag wiederholt mit kochendem Wasser nach, und verwendet Filtrat und Waschwasser nach dem Erkalten zur Bestimmung. — Nach Kast[2]) ergiebt die direkte Bestimmung der Chloride im Hundeharn nach b. und die nach vorläufiger Reduction des Harns mit Zink und Essigsäure keine nennenswerthen Unterschiede, nach v. Mering können dagegen die Ergebnisse beider Verfahrungsweisen sehr wesentlich von einander abweichen.

II. Verfahren nach Mohr[3]).

A. Princip. Der Harn soll so lange mit einer Silbernitratlösung von bekanntem Titer versetzt werden, als noch Chlorsilber gefällt wird. Um diesen Punkt zu erkennen, fügt man dem Harn von natürlich saurer Reaction vorher etwas einer Lösung von neutralem chromsauren Kali zu; ist durch das Silber alles Chlor ausgefällt, so bildet sich auf Zusatz eines kleinen Ueberschusses der Silberlösung neutrales chromsaures Silber, welches dem Chlorsilberniederschlag eine schwach rothe Färbung ertheilt.

Wiewohl auch aus zweifach sauren Phosphaten die Phosphorsäure durch salpetersaures Silber niedergeschlagen wird, so stört der Gehalt des Harns an solchen die Titrirung nicht, weil ein bleibender Niederschlag von phosphorsaurem Silber erst dann entsteht, wenn auch alle Chromsäure durch das Silber gefällt ist (§ 2. a. 1. B. 2 u. 3). Da-

---

1) A. Corvi, L'Orosi 13. 253; Ztschr. f. analyt. Ch. 30. 107.

2) M. Gruber, Ztschr. f. Biol. 19. 569. 1883. — v. Mering, Ztschr. f. physiol. Ch. 8. 229. 1883/84. — Salkowski, a. a. O. 294. — A. Kast, Ztschr. f. physiol. Ch. 11. 279. 1887.

3) F. Mohr, Lehrbuch der Titrirmethode. 1856. 2. 13.

gegen gehen auch andere Harnbestandtheile, wie die Harnsäure, Xanthinbasen, Rhodanide, unterschwefligsaure Salze, Farbstoffe etc. in den Chlorsilberniederschlag über und die Bestimmung wird daher, namentlich bei Hundeharn, unrichtig, wenn man den Harn direkt nach dieser Methode titrirt, wie Neubauer nachwies und Andere[1]) bestätigten. Für die Erlangung richtiger Resultate sind verschiedene Modifikationen des Verfahrens in Anwendung gekommen, von welchen a. und b. untereinander übereinstimmende Resultate geben; die Resultate fallen aber etwas höher aus als die nach I. erhaltenen.

In verdünnten oder heissen Lösungen werden nach Young[2]) zu hohe Werthe erhalten; bei einer auf das Fünffache verdünnten Lösung beträgt der Fehler 5%, in einer 100° heissen 16%, wahrscheinlich wegen der Löslichkeit des Silberchromats.

B. Erforderliche Lösungen.

1. Silbernitratlösung S. 705.
2. Eine Lösung von 1 Theil neutralem chromsauren Kali in 5 Theilen Wasser; das Chromat wird vor der Verwendung so oft umkrystallisirt, bis es chlorfrei ist.

C. Ausführung.

a. Nach Neubauer u. Salkowski. Neubauer hat den Harn unter Zusatz von chlorfreiem Salpeter verascht und die Lösung der Schmelze für die Chlorbestimmung verwendet. Ammoniakhaltiger Harn erfährt dabei aber einen, seinem Ammoniakgehalt entsprechenden Verlust an Chlor, der nach Salkowski[3]) verhütet wird, wenn man den Harn mit kohlensaurem Natron stark alkalisch macht und zur Trockne verdunstet. Das Ammoniak entweicht dabei nicht als Chlorammon, sondern als kohlensaures Ammon. Durch den Salpeter wird die Bildung von Cyaniden und Cyanaten vermieden, welche auch durch Silbernitrat gefällt werden.

Zu 5 oder 10 cc Harn setzt man in einer kleinen Platinschale oder einem kleinen Platintiegel 1 g chlorfreies kohlensaures Natron (S. 656) und 1—2 g chlorfreien Salpeter, dampft unter 100° zur Trockne ein, erhitzt darauf über freiem Feuer, zuerst gelinde, später vorsichtig stärker, bis die geschmolzene Masse völlig weiss geworden ist. Man löst dann die Salzmasse in Wasser, giesst die Lösung in ein Kochfläschchen und spült die Schale sorgfältig mit Wasser nach. Zu der alkalischen Flüssigkeit setzt man, während man das Kochfläschchen in schiefer Lage hält, so lange tropfenweise verdünnte Salpetersäure, bis schwach saure Reaction eingetreten ist, und neutralisirt wieder mit chlorfreiem kohlensauren Natron, oder besser mit kohlensaurem Kalk. Der Mischung setzt man einige Tropfen der Lösung des chromsauren Kalis zu und lässt dann aus einer Burette unter Umschwenken des Kölbchens so lange von der Silberlösung in kleinen Mengen zufliessen, bis der Niederschlag dauernd einen schwachen Stich in's Rothe angenommen hat. Man

---

[1]) L. Habel u. J. Fernholz, Pflüger's Archiv 23. 115. — E. Salkowski, Ztschr. f. physiol. Ch. 5. 287.

[2]) W. G. Young, The Analyst 18. 124; Chem. Centralbl. 1893. 1. 1091.

[3]) E. Salkowski, Ztschr. f. physiol. Ch. 1. 16; 2. 397. — Vgl. Feder u. Voit, Ztschr. f. Biol. 16. 193. — Habel u. Fernholz, a. a. O. 213.

darf nicht vergessen, den Hals des Kölbchens abzuspritzen. Aus dem bis zur Endreaction verbrauchten Volumen der Silberlösung berechnet sich der Gehalt des in Arbeit genommenen Volumens Harn an Chlornatrium.

Eiweiss- und zuckerhaltiger Harn verpufft leicht bei Erhitzen mit Salpeter und Soda. Solcher müsste vor dem Mischen mit den Salzen für sich verkohlt werden. — Enthält die Lösung Nitrit, so fällt die Bestimmung zu hoch aus; die salpetrige Säure lässt sich in der angesäuerten Lösung durch Harnstoff zerstören. Meillère[1]) dampft 5—10 cc Harn mit 5—10 cc einer 20 procentigen Calciumnitratlösung in flacher Platinschale ein, brennt den Rückstand mit kleiner Flamme weiss und titrirt das Chlor in dem wässrigen Auszug der Asche.

b. Nach Latschenberger u. Schumann[2]). Bei diesem Verfahren werden die die Titration störenden Substanzen mittelst schwefelsaurem Kupfer bei neutraler Reaction ausgefällt.

Es werden 10 cc Harn mit 20 cc einer kalt gesättigten Lösung chlorfreien Kupfervitriols versetzt und der Mischung dann aus einer Burette so viel chlorfreie Natronlauge hinzugefügt, bis die Flüssigkeit auf violettes Lackmuspapier nicht mehr reagirt; die Flüssigkeit darf eher etwas sauer als alkalisch sein. Die chlorfreie Lauge wird aus Natrium hydricum puriss. e natrio bereitet und soll so viel Alkali enthalten, dass 20 cc der Kupfervitriollösung durch 10—12 cc der Lauge gefällt werden. Dann setzt man noch 60 cc Wasser zu, filtrirt nach einigem Stehen durch ein Faltenfilter, misst von dem Filtrat, welches völlig klar und farblos sein soll oder höchstens eine Spur von Grünfärbung zeigen darf, 60 cc ab und titrirt mit der Silberlösung unter Zusatz von 12 Tropfen Kaliumchromatlösung. Die in den 60 cc gefundene Menge Chlornatrium berechnet man dann auf das Gesammtvolumen der Flüssigkeit (90 cc + die verwendete Anzahl Cubikcentimeter Natronlauge) und erfährt den Gehalt von 10 cc des Harns an Chlornatrium.

Das Verfahren ist auch auf eiweisshaltigen, aber nicht auf zuckerhaltigen Harn anwendbar; dieser giebt zu hohe Resultate.

c. Freund und Toepfer[3]) setzen dem Harn vor der Titrirung 0,1 Vol. einer Mischung von 3 proc. Essigsäure und 10 proc. Natriumacetat zu; dadurch soll die Fällung der Harnsäure und der Xanthinbasen verhindert, die Empfindlichkeit der Endreaction aber nicht beeinträchtigt werden.

d. Bödtker[4]) fällt aus dem mit Salpetersäure angesäuerten Harn das Chlor durch überschüssiges Silbernitrat und titrirt den Ueberschuss an Silber unter Zuhilfenahme von Kaliumchromat als Indicator mit Kochsalzlösung zurück. Es wurde im Mittel 1,46 % (0—4,48 %) mehr Chlornatrium gefunden als in der Harnasche.

Bödtker titrirt mit 0,1 n Lösungen (0,1 n NaCl wird erhalten durch Verdünnen von 25 cc kalt gesättigter Steinsalzlösung auf 1360 cc). Es werden 10 cc Harn in einem Maasskölbchen zu 100 cc mit 5 cc Salpetersäure von 1,18 Dichte und 50 cc 0,1 n Silbernitrat versetzt und das Absitzen des Niederschlags durch Erwärmen beschleunigt; dann wird zur Marke aufgefüllt, umgeschüttelt und durch ein trocknes Filter filtrirt. Vom Filtrat werden 20 cc auf das Doppelte mit Wasser verdünnt und mit chlorfreier Magnesiamilch, welche man durch Auf-

---

1) G. Meillère, Journ. de pharm. et de chimie [5] **29**. 497; Chem. Centralbl. 1894. **1**. 1164.
2) J. Latschenberger u. O. Schumann, Ztschr. f. physiol. Ch. **3**. 161; Ztschr. f. analyt. Ch. **19**. 122.
3) E. Freund u. G. Toepfer, Centralbl. f. klin. Med. 1892. 801; Ztschr. f. analyt. Ch. **32**. 632.
4) E. Bödtker, Ztschr. f. physiol. Ch. **20**. 193. 1894.

kochen von 10 g gebrannter Magnesia mit 350 cc Wasser erhält, versetzt, zuletzt tropfenweise, bis zu schwacher Trübung, worauf die Flüssigkeit nicht mehr sauer reagiren darf. Dann fügt man sogleich einige Tropfen einer kalt gesättigten Lösung von neutralem Kaliumchromat hinzu; gelungen ist das Verfahren bis dahin, wenn der Niederschlag eine rein rothe Farbe annimmt. Man setzt dann unter stetem Schütteln so lang von der Kochsalzlösung zu, bis die Mischung eine rein gelbe Farbe annimmt. Da die Zersetzung des ungelösten Silberchromats durch die Kochsalzlösung nur langsam von Statten geht, so titrirt man leicht über; die richtige Menge Kochsalzlösung hat man verbraucht, wenn der Niederschlag auf Zusatz von 1—2 Tropfen Silberlösung wieder roth wird. (Vielleicht ist es besser, sogleich einen Ueberschuss an Kochsalzlösung hinzuzufügen und den Ueberschuss mit der Silberlösung zurück zu titriren.)

Setzt man zuviel Magnesia zu oder nimmt man das Rücktitriren nicht sogleich vor, so fällt Silberoxyd aus, welches sich der Bestimmung entzieht; das Silberoxyd macht sich an der schmutzigen Farbe des Chromats kenntlich. Verwendet man zum Neutralisiren Calciumcarbonat statt Magnesia, so fallen die Resultate etwas zu hoch aus.

e. Přibram zerstört die organischen Stoffe in der Siedehitze mit übermangansaurem Kali. 10 cc Harn werden mit 50 cc Chamäleonlösung (1—2 g Salz im Liter) erhitzt und in dem Filtrat das Chlor bestimmt. Neubauer hat nach diesem Verfahren häufig keine günstigen Resultate erhalten. In seinen Versuchen zersetzten 10 cc normaler Harn oft 4 mal so viel chemisch reines übermangansaures Kali, als Přibram angiebt. Es bildet sich dabei, wie leicht nachzuweisen, eine erhebliche Menge von Oxalsäure, und die Titrirung mit Silberlösung und Chromat ergab nicht selten, namentlich bei concentrirten Harnen, in dem wasserhellen, aber ziemlich stark verdünnten Filtrat erheblich mehr Chlor als nach a. — Denigès oxydirt den Harn durch Permanganat in saurer Lösung, indem er 10 cc Harn mit 2 cc 10 proc. Schwefelsäure und 10 cc 0,5 proc. Permanganatlösung zum Kochen erhitzt, nach dem Verschwinden des braunen Niederschlags mit chlorfreiem kohlensauren Kalk neutralisirt, auf ein bestimmtes Volumen bringt und in einem Bruchtheil des Filtrats das Chlor nach Mohr titrirt. Nach Brignone[1]) fallen die nach diesem Verfahren erhaltenen Werthe gleichfalls höher aus, als bei der Bestimmung des Chlors in der Asche durch Wägen als Chlorsilber.

f. Brignone[1]) dampft 10 cc Harn mit 10 cc halbprocentiger Permanganatlösung ein, glüht den Rückstand und bestimmt in der Lösung der Asche das Chlor nach Mohr. Die Resultate stimmen gut zu den Wägungsbestimmungen des Chlors in der Harnasche.

III. Verfahren nach Gay-Lussac.

Es lässt sich das Chlor des Harns, wie Habel u. Fernholz[2]) ausgeführt haben, auch direkt mit Silberlösung, ohne Beihilfe eines Indicators titriren, also unter Anwendung des Verfahrens, dessen sich Gay-Lussac überhaupt als erster Titration zum Probiren des Silbers bediente.

A. Princip. Zu dem mit Barytmischung ausgefällten Harn wird nach starkem Ansäuern desselben so viel einer titrirten Silberlösung zu-

---

[1]) R. Přibram, Prager Vierteljahrschr. **106**. 101; Chem. Centralbl. 1870. 552; Ztschr. f. analyt. Ch. **9**. 428. — Denigès, Chem. Centralbl. 1878. 808. — Brignone, Annali de chim. e farmacol. 1888. 137; Ztschr. f. analyt. Ch. **28**. 127. 1889.

[2]) L. Habel u. J. Fernholz, Pflüger's Archiv **23**. 122. 1880; Ztschr. f. analyt. Ch. **20**. 312.

gesetzt, bis eine abfiltrirte Probe durch Silberlösung ebenso stark getrübt wird, wie durch Kochsalzlösung (Mulder's neutraler Punkt). Die Resultate stimmen nach Habel u. Fernholz mit den nach II. a. erhaltenen überein, nach Bohland bei der Titrirung von Hundeharn ebenfalls mit den nach I. a. u. I. c. in der Modification von v. Mering gewonnenen. Nach Firnig[1]) geben ferner pathologische Harne (bei Fieber) bei gleichzeitiger Anwesenheit von Zucker oder Gallenfarbstoff dieselben Resultate wie nach II. a. Eiweiss muss vorher durch Kochen des Harns bei passend saurer Reaction entfernt werden.

Es werden 2 Volumen Harn mit 1 Volumen chlorfreier Barytmischung (1 Vol. kalt gesättigte Baryumnitrat- und 2 Vol. ebensolche Baryumhydratlösung) ausgefällt, vom Filtrat 15 cc in ein Becherglas abgemessen, diese mit Salpetersäure neutralisirt, dann noch mit 10 Tropfen Salpetersäure von 1,2 Dichte angesäuert und so lange mit der S. 705 angeführten Silberlösung versetzt, als der Niederschlag noch zunimmt. Hierauf filtrirt man eine kleine Portion in ein Reagensgläschen ab, und prüft, ob durch Zusatz von 1—2 Tropfen der Silberlösung aus der Burette eine Trübung entsteht. Ist diese stark, so bringt man das Ganze in das Becherglas zurück, setzt 0,1 cc der Silberlösung zu, prüft wieder eine abfiltrirte Portion mit der Silberlösung und fährt so fort, bis die durch 2 Tropfen der Silberlösung im Filtrat erzeugte Trübung nicht mehr besonders stark ist. Hierauf filtrirt man eine zweite ebenso grosse Portion der Mischung ab und versetzt sie mit 2 Tropfen einer 1 proc. Kochsalzlösung; ist jetzt die Trübung ebenso stark, wie die durch die Silberlösung erzeugte, so hat man den richtigen Punkt getroffen.

Das so erlangte Resultat ist aber noch nicht das endgültige. Man säuert abermals 15 cc des barythaltigen Harnfiltrats in angegebener Weise mit Salpetersäure an, setzt zu der Probe ebenso viel Silberlösung, als man im ersten Versuch gebraucht hat, und prüft wieder zwei Portionen Filtrat einerseits mit der Silberlösung, andererseits mit der Kochsalzlösung. Je nach dem Ausfall der Reaction setzt man nun zu einer dritten Portion angesäuerten Harnfiltrats 0,1 cc Silberlösung mehr oder weniger hinzu und prüft die Filtrate abermals, wodurch man erfährt, ob man mit der Vermehrung oder Verminderung des Volumens der Silberlösung fortfahren soll und setzt diese Proben so lange fort, bis man endlich zwei Filtrate erhält, in welchen die Trübungen durch Silberlösung und durch Kochsalzlösung gleich stark sind. Ergiebt sich bei einer Probe eine gleiche Trübung, so ist das Resultat richtig; fallen zwei Proben, die sich von einander nur durch einen Zusatz von ± 0,1 cc Silberlösung unterscheiden, so aus, dass das eine Filtrat durch die Silberlösung, das andere durch die Kochsalzlösung stärker getrübt wird, so nimmt man das Mittel der zu beiden Proben verbrauchten Volumina der Silberlösung als das richtige Volumen an.

Nach Pflüger und Bohland[2]) lässt sich das Verfahren abkürzen, wenn man das Chlor im (neutralisirten) Barytfiltrat zuerst direkt nach Mohr titrirt und dann bei der Ausführung der Methode von Habel und Fernholz, je nach der Concentration des Harns, mit 1—2 cc Silberlösung weniger beginnt, als man nach Mohr verbraucht hat.

Für die Titrirung von Thierharn verdünnt man die Silberlösung, wegen seines nur schwachen Chlorgehalts, zweckmässig auf das Doppelte. In Hundeharn entsteht sehr bald neben dem Chlorsilber ein schwarzer Niederschlag und die Be-

---

[1]) K. Bohland, Pflüger's Archiv **37**. 451. 1885. — G. Firnig, Pflüger's Archiv **26**. 263. 1881.

[2]) Pflüger u. K. Bohland, Pflüger's Archiv **36**. 157. 1885. — Bohland, a. a. O.

stimmungen können deshalb unrichtig werden. Nach Habel[1]) lässt sich dieser Fehler aber vermeiden, wenn man die zu prüfenden Proben möglichst bald nach dem Zusatz der Silberlösung abfiltrirt.

IV. Nach Zuelzer.

Zuelzer[2]) schlägt vor, 5—10 cc Harn mit Salpetersäure anzusäuern und mit Silbernitrat auszufällen, das abgeschiedene Chlorsilber in Ammoniak zu lösen, die Lösung mit farblosem Schwefelammon oder Schwefelkalium im Ueberschuss zu fällen, den Ueberschuss des Hydrosulphids mit Cadmiumnitrat zu entfernen, auf 300 cc aufzufüllen und in einem abgemessenen Bruchtheil des Filtrats das Chlor nach Mohr zu titriren.

V. Modification der Methoden bei jod- und bromhaltigem Harn.

Enthält der Harn Jodide oder Bromide, so fallen die Bestimmungen des Chlors zu hoch aus. Man vermeidet diesen Fehler nach Salkowski[3]) am Einfachsten dadurch, dass man die Lösung der Schmelze (II. C. a.) mit Schwefelsäure ansäuert und mit Schwefelkohlenstoff ausschüttelt; das Jod oder Brom wird durch die in der Schmelze enthaltene salpetrige Säure in Freiheit gesetzt. Um sich zu sichern, dass genug derselben vorhanden ist, fügt man der Flüssigkeit noch einige Tropfen einer Lösung von salpetrigsaurem Kali zu. Die wässrige Lösung wird schliesslich mit kohlensaurem Natron neutralisirt und eingedampft. — In ähnlicher Weise lässt sich auch der Harn direkt vom Jod oder Brom befreien.

C. Bestimmung des Jodwasserstoffs.

I. Verfahren von Kersting[4]).

A. Princip. Die Bestimmung beruht auf der titrimetrischen Fällung des Jodwasserstoffs durch Palladiumchlorür.

Der Jodwasserstoff wird aus dem mit Schwefelsäure versetzten Harn abdestillirt. Mit dem Destillat wird eine mit Salzsäure angesäuerte Palladiumchlorürlösung bei 60—100^0 versetzt, wobei sich das schwarze Palladiumjodür schnell zu Boden setzt. Fügt man dagegen das Chlorür überschüssigem Jodwasserstoff hinzu, so erfolgt die Bildung des Niederschlags viel langsamer und die Wand des Glases bedeckt sich mit einem schwarzen Ueberzug. Da die Mischung beim Erwärmen und Schütteln fast absolut klar wird, und da sich ferner noch $^1/_{30}$—$^1/_{300}$ mg Jod mittelst Palladium deutlich durch eine entstehende braune Färbung entdecken lässt, so fallen die Bestimmungen nach Versuchen, die Neubauer mit reinem Jodkalium anstellte, sehr genau aus.

B. Erfordernisse.

1. Jodkaliumlösung mit 1 g Jod im Liter. Es werden 1,3083 g jodsäurefreies Jodkalium zum Liter aufgelöst.

Die Gegenwart von Jodsäure im Jodkalium erkennt man daran, dass sich verdünnte Schwefelsäure, mit der man das Salz übergiesst, braun färbt. Die zur Prüfung verwendete Schwefelsäure darf keine salpetrige Säure enthalten; man befreit die Schwefelsäure von den Sauerstoffverbindungen des Stickstoffs, indem man concentrirte Schwefelsäure in einer Porzellanschale mit 0,3 % Ammonsulphat

---

1) Habel, Pflüger's Archiv **24**. 406. 1881.
2) W. Zuelzer, Berichte d. chem. Gesellsch. **18**. 320. 1885.
3) E. Salkowski, Pflüger's Archiv **6**. 214.
4) R. Kersting, Ann. d. Ch. u. Pharm. **87**. 21. 1853.

erhitzt, bis die Schwefelsäure zu verdampfen anfängt. Nach Spica[1]) lassen sich auch noch 0,002 % Kaliumjodat im Jodkalium an der Schwerlöslichkeit des Baryumjodats erkennen. — Da die Jodkaliumlösung durch Wägen des Jodkaliums bereitet wird, darf das Salz auch kein Chlor enthalten. Um Chlor nachzuweisen, fällt man die Lösung mit Silbernitrat aus, schüttelt mit überschüssigem Ammoniak und filtrirt; bei Anwesenheit von Chlor giebt das Filtrat beim Uebersättigen mit Salpetersäure einen flockigen Niederschlag (von Chlorsilber). Chlorfreie Salpetersäure verschafft man sich leicht dadurch, dass man gewöhnliche Salpetersäure mit Silbernitratlösung vermischt und den entstandenen amorphen Niederschlag sich absetzen lässt.

2. Saure Palladiumchlorürlösung. Man löst ein abgewogenes Stück Palladium in Königswasser, dampft im Wasserbad zur Trockne ein und setzt auf 1 g Metall 50 cc Salzsäure zu. Man verdünnt dann die Lösung für 1 g Metall auf ungefähr 8 Ltr., so dass von der richtig gestellten Lösung 1 cc 0,25 mg Jod anzeigt. Den wahren Gehalt der Lösung ermittelt man durch Titriren der Jodkaliumlösung und ertheilt nach dem Befund der Lösung die richtige Concentration. Es werden in einem 100 cc fassenden Kölbchen 10 cc, der Palladiumlösung zum Sieden erhitzt. Dann lässt man aus einer Burette die Jodkaliumlösung nach und nach zufliessen, schüttelt stark und erwärmt einige Secunden. Von der in wenigen Augenblicken klar gewordenen Flüssigkeit giesst man eine geringe Menge in zwei kleine enge Proberöhrchen, so dass beide etwa 2—3 cm hoch gefüllt sind. Zu der einen Probe setzt man darauf noch einige Tropfen der Jodlösung und vergleicht nun mit der anderen, ob noch eine Bräunung eintritt oder nicht. Ist Ersteres der Fall, so spült man die Proben wieder zur Hauptflüssigkeit, setzt weitere Jodlösung zu, schüttelt, erwärmt, prüft wieder auf die angegebene Art, und fährt so fort, bis eine neue Menge Jod keine Färbung mehr erzeugt. Ist dieser Punkt erreicht, so filtrirt man etwas Flüssigkeit ab, und wenn diese weder durch Palladium noch durch Jodlösung merklich gebräunt wird, so kann sie kaum $^1/_{100000}$ Ueberschuss an einem dieser Stoffe enthalten.

C. Ausführung.

Das Abdestilliren des Jodwasserstoffs aus dem Harn nimmt man nach meinen und Pecirka's[2]) Erfahrungen am Besten in folgender Weise vor.

Es werden 50 cc Harn in einem Viertelliter Kölbchen mit Natronlauge alkalisch gemacht und in dem schräg gelagerten Kölbchen auf $^1/_4$ eingekocht. Man befestigt dann das Kölbchen an einem Destillationsapparat, dessen Kühlrohr einen gläsernen Mantel hat, legt ein Maasskölbchen von 100 cc vor, erwärmt die Flüssigkeit schwach und lässt aus einem mit Glashahn oder Stopfen versehenen Trichterrohr langsam 20 cc Schwefelsäure zufliessen. Die Flüssigkeit kommt dabei von selbst in ruhiges Sieden und die Schwefelsäure vertheilt sich gleichmässig in ihr. Setzt man die Schwefelsäure zu kaltem Harn, so sammelt sie sich am Boden an und die Flüssigkeit stösst beim nachfolgenden Erwärmen stark; ist der Harn zu heiss, so tritt beim Zufliessen der Schwefelsäure eine stürmische Reaction ein. Man unterhält die Destillation, bis kleinblasiges ruhiges Sieden eintritt, d. i. bis zu dem Punkt, wo Schwefelsäure überzugehen beginnt. Anfangs destillirt metallisches Jod über, welches sich im Kühlrohr condensirt. Dasselbe wird aber durch die nachfolgende schweflige Säure gelöst und aus dem Kühlrohr ausgewaschen; erst wenn der Harn mehr als 50 mg Jod in 50 cc (2 g KJ in 1500 cc) Harn enthält, bleibt Jod zurück, das sich aber leicht durch Nachgiessen einer Lösung von schwefligsaurem Salz in das Destillationsgefäss spülen liesse. — Der Destillationsapparat sollte ganz aus Glas bestehen, und das Destillationsrohr muss weit in das Kühlrohr hineinreichen; am Besten wird man eine Retorte mit eingeschliffenem

1) Spica, Gaz. chim. 24. 91; Ztschr. f. anal. Ch. 35. 343. 1896.
2) F. Pečirka, Ztschr. f. physiol. Ch. 7. 491.

Trichterrohr verwenden, deren Schnabel eine lange Strecke dünn ausgezogen ist. In Ermangelung einer solchen stellt man die Dichtungen mit paraffinirtem Korkstöpsel oder mit Kautschukstopfen her, die durch Auskochen mit Soda entschwefelt worden sind. Korke tränkt man in der Weise mit Paraffin, dass man sie längere Zeit auf 100° erwärmt, noch heiss in das geschmolzene Paraffin taucht und abtropfen lässt.

Das Destillat enthält den Jodwasserstoff, die flüchtigen Säuren, Phenol, Schwefelsäure und schweflige Säure. Bevor die Jodbestimmung ausgeführt werden kann, muss die schweflige Säure oxydirt werden, weil sie Palladiumchlorür zu Metall reducirt. Dies geschieht durch tropfenweisen Zusatz von gesättigter Chlorkalklösung, von welcher aber auch ein Ueberschuss vermieden werden muss, weil das Palladiumchlorür von ihm oxydirt wird. Um das richtige Maass zu treffen, versetzt man die Flüssigkeit mit etwas Stärkelösung und fügt Chlorkalk bis zum Eintritt einer dauernden, aber schwachen Blaufärbung zu. Ist dieser Punkt erreicht, so füllt man auf 100 cc auf, giesst die filtrirte Flüssigkeit in eine Burette und titrirt mit ihr 10 cc Palladiumlösung, wie bei der Titerstellung derselben nach B. 2. Aus dem Titer der Palladiumlösung und dem verbrauchten Volumen des Destillats berechnet man die Menge des vorhandenen Jods.

Die Destillation dauert lang und bedarf zur Verhütung des Uebersteigens steter Ueberwachung. Hilger erhielt constant zu geringe Werthe, Zeller[1]) gleichfalls etwas zu niedere Werthe, Pečirka fand statt 10 mg Jod 8,4—9,8 mg, statt 50 mg 46,0—48,8; die Verluste, welche Pečirka erlitt, dürften wenigstens zum Theil der nicht völlig zweckmässigen Einrichtung seines Destillationsapparates zuzuschreiben sein.

II. Verfahren von Hilger.

Hilger[2]) titrirt den Harn direkt mit der Palladiumchlorürlösung.

Es werden 10—20 cc der Palladiumchlorürlösung, je nach dem Jodgehalt des Harns, der sich leicht durch eine qualitative Probe auf Jod annähernd feststellen lässt, in einem Glasgefäss mit eingeschliffenem Glasstöpsel im Wasserbade erhitzt und von dem jodhaltigen Harn, der zuvor mit Salzsäure angesäuert und auf ein bestimmtes Volumen gebracht war, so viel zugesetzt, bis sämmtliches Palladium als Jodür ausgeschieden ist. Heftiges Schütteln der Mischung beschleunigt die Abscheidung sehr. Kleine Proben von Zeit zu Zeit abfiltrirt und mit einigen Tropfen Harn versetzt, zeigen beim Erhitzen durch eine stattfindende Trübung oder durch Klarbleiben, ob die Reaction beendigt ist, oder nicht. Nach Hilger's Beobachtungen fällt das Ende der Reaction mit dem Momente zusammen, bei welchem die Abscheidung des Jodpalladiums in deutlichen Flocken beginnt, während die Flüssigkeit in stetem Sieden erhalten wird.

---

[1]) Hilger, Ztschr. f. analyt. Ch. **12**. 342. — Zeller, Ztschr. f. physiol. Ch. **8**. 286.

[2]) Hilger, a. a. O. u. Ann. d. Ch. u. Pharm. **171**. 212; Ztschr. f. analyt. Ch. **13**. 475.

Hilger erhielt nach seiner Methode sehr genaue Resultate, Zeller ungefähr ebenso genaue wie Hilger; Pecirka fand dagegen immer zu viel. Nach Pečirka ist die Quelle des Fehlers in der Färbung des Harns zu suchen; während man nämlich bei farblosen Flüssigkeiten das Ende der Reaction daran erkennt, dass sich auf Zusatz der Jodlösung die Mischung nicht mehr färbt, giebt bei Verwendung von Harn nur das Entstehen einer deutlichen Trübung den Ausschlag; diese bleibt aber schon aus, wenn noch Färbung eintritt, man verbraucht deshalb zu wenig Harn und findet zu viel Jod. Auch hat Kersting[1]) bereits darauf aufmerksam gemacht, dass der Niederschlag, welchen jodhaltiger Harn mit Palladiumchlorür giebt, ausser Palladiumchlorür ein organisches Palladiumsalz und Palladiummetall enthält; Harnstoff giebt nach Drechsel eine sehr schwer lösliche Verbindung mit Palladiumchlorür (§ 32. B. 5. S. 295). In Hundeharn giebt die unterschweflige Säure mit Palladiumchlorür nach Zeller einen Niederschlag von Schwefelpalladium.

III. Verfahren von Pecirka.

Pečirka[2]) verascht den Harnrückstand durch Schmelzen mit Soda und Salpeter und titrirt in der Lösung des Produkts das Jod nach Entfernung der salpetrigen Säure und der übrig gebliebenen Salpetersäure. Das Verfahren eignet sich auch zur Bestimmung des Jods namentlich dann, wenn es in anderer Form als der des Jodwasserstoffs, z. B. in organischer Verbindung, vorhanden ist.

Die salpetrige Säure würde für sich, die Salpetersäure unter Vermittlung der Chloride der Harnasche das Palladiumchlorür oxydiren. Die Salpetersäure wird in alkalischer Lösung durch Zink, die salpetrige Säure durch schweflige Säure reducirt. — Es werden 50 cc Harn nach Zusatz von 0,5 g Salpeter und 5 cc Normalsodalösung in einer Platinschale bei einer dem Siedepunkt nahen Temperatur zur Trockne verdunstet, der Rückstand sofort weiss gebrannt und die Asche in 5 cc einer 10 proc. Natronlauge und der nöthigen Menge Wasser gelöst. Nachdem man in die Lösung ein Zinkstäbchen gelegt hat, hält man sie eine Stunde lang warm, giesst sie in ein Kölbchen von 100 cc, spült die Schale und den Zinkstab nach, versetzt die Flüssigkeit mit Stärkelösung und säuert sie mit verdünnter Schwefelsäure (1 : 4), besser mit Salzsäure an. Wird die Flüssigkeit dabei nur schwach blau, so kann sie sofort zum Titriren verwendet werden, färbt sie sich aber stark blau oder grün oder braun, so wird sie durch tropfenweisen Zusatz einer Lösung von schwefligsaurem oder saurem schwefligsauren Natron entfärbt. Das dabei aus der salpetrigen Säure entstandene Stickoxyd wird durch einen ziemlich lebhaften Strom Kohlensäure ausgetrieben; es würde in Berührung mit Luft wieder zu salpetriger Säure werden. Einen Ueberschuss von schwefliger Säure entfernt man durch tropfenweisen Zusatz von Chlorkalklösung. Die Flüssigkeit muss zuletzt schwach blau sein. Man füllt auf 100 cc auf und titrirt nach I. C.

Pečirka fand statt 10 mg Jod in 100 cc 9,84—10,0 mg, statt 50 mg in 100 cc 48,5—49,2 mg Jod wieder.

IV. Verfahren von Harnack[3]).

Bestimmung des als Jodwasserstoff und in anderer Form im Harn enthaltenen Jods durch Wägen als Palladiumjodür.

Zur Bestimmung des Jodwasserstoffs (nach dem Gebrauch von Jodoform) hat Harnack den Harn mit Salzsäure versetzt, mit Palladiumchlorür ausgefällt.

---

1) Pecirka, a. a. O. 493. — Kersting, a. a. O. 25.
2) Pecirka, a. a. O. 493.
3) E. Harnack, Berl. klin. Wochenschr. 22. 98. 1885.

den Niederschlag am folgenden Tage abfiltrirt, gewaschen und mit Soda geglüht. Der Glührückstand wurde mit heissem Wasser ausgezogen, die Lösung übersäuert und wieder mit Palladiumchlorür gefällt; zuletzt wurde dieser Niederschlag gewaschen, getrocknet und gewogen. Aus der gefundenen Menge Palladiumjodür PdJ_2 wird der Jodwasserstoff berechnet.

Die gesammte Jodmenge wurde so gefunden, dass der Harn nach Zusatz von Soda verdampft und der Rückstand geglüht wurde. Die entstandene Kohle wurde mit heissem Wasser ausgezogen und verascht. Alles wurde in salzsaure Lösung gebracht und wie vorhin mit Palladiumchlorür gefällt.

V. Verfahren von Wallace und Lamont[1]).

Das Verfahren wurde von Zeller[2]) zur Bestimmung von Jodwasserstoff neben organischen Jodverbindungen angewendet; es beruht auf der Trennung des Chlorsilbers vom Jodsilber durch Ammoniak.

Der Harn wird mit Salpetersäure angesäuert, ½ Stunde auf dem Wasserbad erwärmt, nach völligem Erkalten filtrirt und so lang unter beständigem Umrühren mit salpetersaurem Silber versetzt, bis der entstehende Niederschlag nicht mehr gelb, sondern rein weiss ist, oder bis eine abfiltrirte Probe mit ammoniakalischer Silberlösung nicht mehr getrübt wird. Der Niederschlag wird abfiltrirt, gewaschen und getrocknet, dann möglichst vollständig in ein Becherglas gebracht und mit der 15—20 fachen Menge von starkem Ammoniak digerirt Man filtrirt den Niederschlag durch dasselbe Filter, wäscht ihn erst mit verdünntem Ammoniak, dann mit Wasser. Die Filtration wird leicht dadurch verzögert, dass das Filtrat durch fein vertheiltes Jodsilber getrübt ist, das sich erst nach 1—2 Tagen absetzt. Der Niederschlag enthält neben Jodsilber noch Chlorsilber, und das Filtrat enthält etwas Jodsilber gelöst. Den wahren Gehalt des Niederschlags an Jodsilber erfährt man durch Behandeln des Niederschlags mit Chlor[3]) und rechnet das gelöste Jodsilber hinzu; 2493 cc Ammoniak von 0,85 Dichte lösen 1 g Jodsilber.

Bei der Analyse von jodkaliumhaltigem Hundeharn fand Zeller statt 0,2696 g Ag J 0,2630 g unreines und 0,2557 reines Jodsilber; statt 0,2944 Ag J 0,2805 unreines und 0,2753 g reines Jodsilber.

VI. Verfahren von Sandlund[4]).

Sandlund fällt den Jodwasserstoff mit Silbernitrat, reducirt den Niederschlag mit Zinkstaub, oxydirt den gebildeten Jodwasserstoff nach Duflos mit Eisenchlorid und titrirt das abdestillirte Jod mit Thiosulphat.

Von nicht zu jodarmem Harn werden 25—50 cc mit Salpetersäure stark angesäuert und mit Silbernitrat ausgefällt. Nach halbstündiger Digestion auf dem Wasserbade wird der Niederschlag säurefrei gewaschen und sammt dem Filter in einem 100—200 cc fassenden schräg liegenden Kolben mit 8 cc Wasser, 4 cc Salzsäure von 1,12 Dichte und 2 g Zinkstaub behandelt. Nach Vollendung der Reduction wird heiss in einen Kolben von 100 cc filtrirt, mit 35—40 cc Wasser nachgewaschen, das Filtrat nach Zusatz von 3—4 g krystallisirtem Eisenchlorid

---

[1]) Wallace nnd Lamont: Fresenius, Anleitung zur quantit. Analyse, 6. Aufl. **1**. 660.

[2]) Zeller, a. a. O. 288.

[3]) Fresenius, a. a. O. 659.

[4]) H. Sandlund, Archiv d. Pharm. **232**. 177. 1893; Ztschr. f. anal. Chem. **34**. 124.

der Destillation unterworfen und das Destillat in kalt gehaltener Jodkaliumlösung aufgefangen. Wenn etwa zwei Drittel der Flüssigkeit übergegangen sind, wird das Jod im Destillat mit $^1/_{50}$ oder $^1/_{100}$ n Thiosulphat titrirt (§ 63. I. B. 2).

Um die störende Beimengung von Harnsäure zu vermeiden, ist das Ansäuern des Harns und das Fällen mit der Silberlösung an demselben Tage auszuführen. Das Eisenchlorid oxydirt nur den Jodwasserstoff, nicht auch den Chlorwasserstoff und den Bromwasserstoff. Die Verbindung des Kolbens mit dem Trichter ist durch Schliffe (mindestens durch paraffinirte Korke oder auch Kautschukstöpsel, (dieser § C. I. C.) herzustellen. Die Destillation muss überwacht werden, damit die Flüssigkeit (anfangs) nicht überschäumt und die Jodkaliumlösung nicht zurücksteigt.

Bei geringerem Jodgehalt wird der Harn mit 1 g Natriumcarbonat (wasserfrei) auf 100 cc in einer Platinschale vorsichtig verascht, die Lösung der Asche im Destillirkolben mit Salzsäure angesäuert, zur Vertreibung der Kohlensäure gelinde erwärmt und dann mit Eisenchlorid destillirt. Die Asche darf keine Reste organischer Substanz enthalten, da die Resultate sonst zu hoch ausfallen. Es ist daher besser, erst blos zu verkohlen, die Kohle mit Wasser auszuziehen und den Rest zu verbrennen.

Nach Villiers und Fayolle[1]) lässt sich bei diesem Verfahren das Jod durch die Destillation nicht gut vollständig gewinnen.

VII. Verfahren von Nicolle[2]).

Nicolle setzt das Jod in der Harnasche mit Kaliumdichromat in Freiheit, destillirt es in eine Jodkaliumlösung und titrirt es mit Thiosulphat (§ 63. I. B. 2.).

Es werden 50 cc Harn mit 2 g Kaliumhydrat bei Rothgluth verascht, man zieht die Asche mit heissem Wasser aus, neutralisirt das Filtrat mit Schwefelsäure und destillirt nach Zusatz von (20 g) Kaliumdichromat. Die zum Auffangen des Jods dienende Jodkaliumlösung ist 4 proc. Dichtung des Destillationsapparates wie dieser § C. I. C. Bei der Veraschung können Sulphide entstehen und der dann bei der Destillation auftretende Schwefelwasserstoff würde zu einem falschen Resultate führen. Zur Beseitigung dieses Fehlers soll man die Sulphate mit Chlorbaryum ausfällen (wobei jedoch die gepaarte Schwefelsäure und andere Schwefelverbindungen in Lösung bleiben) oder den Schwefelwasserstoff aus der Lösung der Asche durch Erwärmen mit Oxalsäure austreiben. — Der Destillationsrückstand lässt sich noch zur Bestimmung in ihm enthaltenen Broms verwenden.

VIII. Verfahren von Nencki u. Schoumow-Simanowsky[3]).

Anwendung des Verfahrens von Cook[4]) zur Bestimmung des Jods in Jodiden auf den Harn.

Die (unter Zusatz von Soda wie bei VI. dargestellte) Harnasche wird mit überschüssiger Essigsäure und Wasserstoffsuperoxyd behandelt. Nach einstündigem Stehen ist alles Jod frei geworden. Man zieht mit Chloroform aus, wäscht dieses

---

1) A. Villiers u. M. Fayolle, Comptes rendus **118**. 1332; Bull. de la Soc. chim. [3] **11**. 544. 1894; Ztschr. f. anal. Ch. **34**. 600.

2) A. Nicolle, Journ. de pharm. et de chim. [5] **28**. 298; Chem. Centralbl. 1893. **2**. 1032.

3) M. Nencki u. E. O. Schoumow-Simanowsky, Arch. des sc. biolog. **3**. 197; Archiv f. exper. Pathol. **34**. 319. 1894.

4) E. H. Cook, Journ. of the chem. Soc. **47**. 471; Ztschr. f. anal. Ch. **34**. 601. 1895.

mit Wassor, das absolut frei ist von Wasserstoffsuperoxyd und titrirt mit Thiosulphat (§ 63. I. B. 2). Chloride und Bromide werden bei diesem Verfahren nicht zersetzt. In der rückständigen Flüssigkeit lässt sich das Chlor bestimmen, wenn das angewandte Wasserstoffsuperoxyd chlorfrei war, was jedoch bei dem käuflichen oft nicht der Fall ist. Demselben Zwecke dient auch Natriumsuperoxyd, welches man chlorfrei von de Haën in List vor Hannover erhalten kann.

IX. Verfahren von Villiers u. Fayolle.

Aus dem in Wasser gelösten Jodid wird das Jod nach Duflos durch Eisenchlorid in Freiheit gesetzt, in Schwefelkohlenstoff aufgenommen und mit Thiosulphat unter Schütteln in einer verschlossenen Flasche titrirt (§ 63. I. B. 2.).

Es ist die Harnasche in neutraler oder saurer Lösung zu verwenden, Salpetersäure darf nicht zugegen sein. Auf 0,1 g Jod reichen 5 cc einer halb normalen Eisenchloridlösung aus. Ein viermaliges Behandeln der Lösung mit Schwefelkohlenstoff genügt zur vollständigen Entziehung des Jods.

X. Verfahren von Jolles[1]).

Der mit Salpetersäure angesäuerte wässerige Auszug des verkohlten Harns wird mit Silbernitrat gefällt und in dem Niederschlag das Jod durch Ueberleiten von Chlor in bekannter Weise bestimmt (Fresenius, Quantitat. Analyse, 6. Aufl. 1. 659).

XI. Colorimetrisches Verfahren von Struve.

Struve[2]) stellt sich aus Jodkaliumlösung von bekanntem Gehalt. rauchender Salpetersäure und einem stets gleichen Volumen Schwefelkohlenstoff Lösungen von Jod in Schwefelkohlenstoff von verschiedenem aber bekanntem Gehalt und verschiedener Färbung her und vergleicht mit diesen Normallösungen die Jodlösungen, welche in ganz derselben Weise aus Harn gewonnen werden. Die cylindrischen Gläser, in welchen die Färbungsintensitäten verglichen werden, müssen dieselbe Weite besitzen. Die Normallösungen lassen sich, unter Wasser, einschmelzen und aufbewahren.

D. Bestimmung des Bromwasserstoffs.

I. Nach Berglund.

Nencki u. Schoumow-Simanowsky bedienen sich dazu des Verfahrens von Berglund[3]), nach welchem aus einer Mischung von Bromid und Chlorid durch saures Kaliumsulphat und Permanganat unter bestimmten Bedingungen nur das Brom frei wird.

Die Bestimmung wird mit der Harnasche in neutraler Lösung ausgeführt. Die Flüssigkeitsmenge soll nach Berglund 50 cc nicht übersteigen und ihre Concentration (Gehalt an Brom) höchstens 2% betragen. Die Lösung wird in einem

---

1) Ad. F. Jolles, Ztschr. f. anal. Ch. **30**. 290. 1891.

2) H. Struve, Journ. f. prakt. Ch. **105**. 429; Ztschr. f. analyt. Ch. **8**. 230.

3) Nencki und Schoumow-Simanowsky a. a. O. — E. Berglund, Ztschr. f. anal. Ch. **24**. 184. 1885.

Kölbchen mit 15–25 cc einer 10 proc. Kaliumpyrosulphatlösung versetzt, die keine freie Säure enthalten darf; ist man dessen nicht sicher, so neutralisirt man 1/5 der Lösung mit kohlensaurem Natron und mischt darnach die übrigen 4/5 dazu. Die 2 proc. Permanganatlösung befindet sich in einem Gefäss mit Stöpsel, in dessen einer Bohrung sich ein Glasrohr bis auf den Boden verschieben lässt; die Lösung wird in einzelnen Antheilen, je nachdem sie verbraucht wird, durch einen Gasstrom in die Bromidlösung hinunter gedrückt. Das Brom wird durch einen langsamen Luft- oder Kohlensäurestrom ausgetrieben. Die Absorption des Broms erfolgt in einem Will-Varrentrapp'schen Apparat, wie er bei den Stickstoffbestimmungen mit Natronkalk gebraucht wurde, nach Nencki u. Schoumow-Simanowsky in einer Jodkaliumlösung. Dem Will-Varrentrapp'schen Apparat wird noch ein Rohr mit Jodkaliumlösung angefügt, damit man erfährt ob alles Brom absorbirt wird. Um zu erkennen, ob alles Brom ausgetrieben ist, wechselt man die Vorlage. Das frei gewordene Jod wird mit Thiosulphat titrirt (§ 63. I. B. 2.). Nach Berglund ist ein 1—1½stündiges Durchleiten des Gases erforderlich.

II. Nach Nicolle[1]).

Die wässrige Lösung wird mit Chromsäure behandelt, das frei gewordene Brom in Jodkaliumlösung destillirt und mit Thiosulphat titrirt.

Verfahren wie bei der Bestimmung des Jods, dieser § C. VII; nur wird hier die Lösung der Harnasche, welche im Ganzen 40 cc betragen soll, zur Destillation mit 10 cc Schwefelsäure und 20 g Kaliumdichromat versetzt.

III. Nach Caigniet[2]).

Caigniet bestimmt das Brom im wässrigen Auszug des verkohlten Harns mit einer titrirten Lösung von unterchlorigsaurem Natron.

Man soll das Verkohlen so lange fortsetzen, bis der wässrige Auszug farblos ist. Das Filtrat säuert man mit Citronensäure an und setzt die Chlornatronlösung aus einer Bürette vorsichtig zu. Das frei gewordene Brom nimmt man mit Schwefelkohlenstoff auf und erneuert diesen von Zeit zu Zeit. Man hat so immer eine farblose Flüssigkeit und es sei leicht der Punkt zu treffen, wo ein weiterer Tropfen der Lösung des unterchlorigsauren Salzes keine Färbung der Flüssigkeit und des Schwefelkohlenstoffs mehr bewirkt, womit das Ende des Versuchs angezeigt ist.

E. Bestimmung der Schwefelsäure und des neutralen Schwefels.

Bei der Bestimmung der Schwefelsäure im Harn hat man auf die zwei Formen Rücksicht zu nehmen, unter welchen die Schwefelsäure im Harn vorkommt (§ 2. a. 3; S. 12). Man kann demnach die Gesammtschwefelsäure im Harn bestimmen, ebenso auch die in den gewöhnlichen schwefelsauren Salzen, sowie die als Aetherschwefelsäure vorhandene für sich.

---

[1]) A. Nicolle, Journ. de pharm. et de chimie [5] 28. 298; Chem. Centralbl. 1893. 2. 1032.

[2]) Caigniet, Journ. de pharm. et de chimie, Juillet 1869. 29. Ztschr. f. anal. Ch. 9. 427.

I. Bestimmung der Gesammtschwefelsäure.

1. Durch Wägung.

A. Princip. Die Schwefelsäure des Harns wird durch Chlorbaryum gefällt und als Baryumsulphat bestimmt. Da die Schwefelsäure der Aetherschwefelsäuren dabei der Fällung entgeht, so müssen diese vorher durch Digestion mit Salzsäure in der Wärme in ihre Bestandtheile zerlegt werden. Die Fällung hat man in heisser Flüssigkeit bei Gegenwart von freier Salzsäure auszuführen. Der dabei entstehende schwefelsaure Baryt scheidet sich nach Bunsen dann so dicht ab, dass er vom Filter zurückgehalten wird, wenn aus 100 cc Flüssigkeit nicht mehr als ungefähr 0,1 g schwefelsaurer Baryt erhalten wird. Dieser Niederschlag ist aber nicht rein, sondern hält, auch wenn er aus reinen Salzlösungen gewonnen wurde, noch lösliches Barytsalz, namentlich das Nitrat, hartnäckig fest, von welchem er, wenn grosse Genauigkeit angestrebt wird, befreit werden muss. Andererseits ist zu berücksichtigen, dass selbst verdünnte Salzsäure, namentlich heisse, nicht unwesentliche Mengen Baryumsulphat löst.

Der Liter 1 proc. Salzsäure löst nach Hammarsten[1]) 5 mg, der Liter 3 proc. Salzsäure nach Fresenius 60 mg Baryumsulphat.

B. Ausführung. Es werden 25 oder 50 cc vorher filtrirter Harn auf das 2—3 fache verdünnt, auf 100 cc Flüssigkeit mit 5—10 cc Salzsäure (E. Salkowski[2]) versetzt, bis nahe zum Sieden erhitzt und mit Chlorbaryumlösung in geringem Ueberschuss ausgefällt. Man lässt die Flüssigkeit noch einige Stunden in der Wärme (auf dem Wasserbad), dann noch 24 Stunden in der Kälte stehen, damit das von der heissen Säure in Lösung gehaltene Barytsulphat ausfällt, und filtrirt die Flüssigkeit durch ein kleines aschefreies Filter ab. Den Niederschlag lässt man im Becherglas, rührt ihn in wenig heissem Wasser auf, lässt ihn sich wieder absetzen, filtrirt die Flüssigkeit ab und wiederholt dieses Verfahren so oft, bis das Filtrat mit Schwefelsäure sowie mit Silbernitrat keinen Niederschlag mehr giebt; endlich bringt man auch den Niederschlag auf das Filter. Alsdann wäscht man die braunen harzigen Substanzen, welche dem Niederschlag beigemengt sind, nach Baumann mit heissem Alkohol weg, was zum grössten Theile gelingt. Man trocknet darauf den Niederschlag unter 100°, löst ihn möglichst vollständig vom Filter ab und bringt ihn in einen Platintiegel. Verzichtet man auf eine Reinigung des Niederschlags, was bei minderen Ansprüchen an die Genauigkeit der Bestimmung zulässig ist, so brennt man das Filter in der Platinspirale weiss (vergl. Fresenius, An-

---

1) Hammarsten, Ztschr. f. physiol. Ch. 9. 284.
2) Salkowski, Ztschr. f. physiol. Ch. 10. 350.

leitung zur quantitativen Analyse, § 53), bringt die Asche zu dem Niederschlag in den Tiegel, glüht diesen und wägt ihn, nachdem er im Exsiccator erkaltet ist. Die Gewichtszunahme ergiebt das Gewicht des schwefelsauren Baryts. 100 Theile schwefelsaurer Baryt entsprechen 34,28 Theilen SO_3 oder 41,13 SO_4 oder 41,99 Theilen H_2SO_4.

Die zum Ansäuern des Harns verwendete Salzsäure muss selbstverständlich frei von Schwefelsäure sein. Nach Salkowski[1]) kann Salzsäure, auch wenn sie bei der direkten Prüfung mit Chlorbaryum (nach starkem Verdünnen) keinen Niederschlag giebt, doch Schwefelsäure enthalten, die sie beim Verdunsten hinterlässt; man erhält die Salzsäure rein durch Destillation.

Beim Verdampfen von Salzsäure direkt über einer Gasflamme kann Schwefelsäure aus den Verbrennungsgasen in die Flüssigkeit gelangen.

Nach einem Vorschlag von Warren[2]) soll man die Flüssigkeit mit einigen Tropfen reiner ätherischer Pyroxylinlösung versetzen, was verhindern soll, dass das Baryumsulphat durch das Filter geht. Wenn man jedoch nach der gegebenen Vorschrift verfährt, hat man diesen Behelf nicht nöthig.

Den Verlust, welchen man durch die Löslichkeit des Baryumsulphats im angesäuerten Harn erleidet, wird man dadurch vermindern können, dass man zuerst den Harn mit 5—10 Volumprocent Salzsäure erhitzt, dann erst verdünnt und mit Chlorbaryum fällt.

Die Reinigung des Baryumsulphats nimmt man, wenn es nöthig ist, nach Brügelmann[3]) in folgender Weise vor. Der Niederschlag wird im Platintiegel mit 3—4 Tropfen concentrirter Salzsäure und mit einigen Cubikcentimetern Wasser versetzt, die Klümpchen desselben mit einem Glasstab zertheilt und die Flüssigkeit etwa 2 Minuten lang über der Flamme erwärmt, ohne dass sie ins Sieden kommt. Zusatz grösserer Mengen Salzsäure und Erhitzen der Flüssigkeit bis zum Sieden bewirkt starken Verlust an schwefelsaurem Baryt. Die über dem Niederschlag stehende Flüssigkeit wird durch ein kleines Filter gegossen und das angegebene Verfahren 5 mal wiederholt. Nun erst wäscht man aus und prüft das Waschwasser mit Schwefelsäure auf lösliches Barytsalz. Entsteht noch eine Trübung, so wäscht man in der angegebenen Weise nochmals mit Salzsäure und fährt so fort, bis das Filtrat entweder ganz oder bis auf unwesentliche Spuren frei von Baryt ist. Dieses Ziel lässt sich auch bei starker Verunreinigung des Niederschlags innerhalb einer Stunde erreichen. Der Niederschlag wird dann auf dem Filter gesammelt, getrocknet und in einen gewogenen Platintiegel geschüttet. Dieses Filter, sowie das, auf welchem der Barytniederschlag zuerst gesammelt wurde, werden in der Platinspirale verbrannt und die Asche mit dem Niederschlag im Tiegel geglüht. War der Niederschlag noch nicht frei von organischer Substanz, so ist jetzt schwefelsaurer Baryt reducirt worden; man befeuchtet daher den Niederschlag mit verdünnter Schwefelsäure, verdunstet die Flüssigkeit vorsichtig, glüht den Tiegel abermals und wägt ihn nach dem Erkalten im Exsiccator.

Die Salzsäure, mit welcher der Niederschlag gewaschen worden ist, hat etwas Baryumsulphat gelöst; man kann dieses wieder gewinnen, wenn man das Filtrat fast bis zur Trockne verdunstet und die ausgeschiedenen Salze in Wasser löst, wobei das Baryumsulphat zurückbleibt. Der Verlust beträgt aber für das jedesmalige Auskochen nur 1 mg und kann vernachlässigt werden.

2. Durch Titriren.

Nach Neubauer.

Das Verfahren ist alt, aber in der beschriebenen Form von Neubauer auf den Harn angewandt worden.

---

1) Salkowski, Virchow's Archiv **66**. 326.
2) H. N. Warren, Chem. News **61**. 63; Ztschr. f. analyt. Ch. **30**. 35.
3) G. Brügelmann, Ztschr. f. analyt. Ch. **16**. 22.

A. Princip. Zu dem mit Salzsäure stark angesäuerten heissen Harn setzt man so viel einer Chlorbaryumlösung von bekanntem Gehalt, bis ein Theil der abfiltrirten Flüssigkeit durch die Chlorbaryumlösung ebenso stark getrübt wird, wie durch eine entsprechend concentrirte Lösung von schwefelsaurem Kali (Mulder's neutraler Punkt).

B. Bereitung der Lösungen.

1. Chlorbaryumlösung. Man löst reines lufttrocknes Chlorbaryum $BaCl_2$, $2 H_2O$ in Wasser, so dass 1 *l* Lösung 30,54 g des Salzes enthält; 1 cc der Lösung zeigt dann 10 mg SO_3 an.

2. Lösung von schwefelsaurem Kali. Diese soll der Chlorbaryumlösung genau äquivalent sein; man löst dazu von chemisch reinem, bei 100^0 getrockneten schwefelsauren Kali so viel in Wasser, dass im Liter 21,775 g des Salzes enthalten sind.

C. Ausführung. Man misst 50 oder 100 cc Harn in ein Kochfläschchen oder kleines Becherglas, setzt auf 100 cc Harn 5—10 cc Salzsäure zu und erhitzt $^1/_4$ Stunde zum Sieden oder 1 Stunde im Wasserbad. Zu der immer heiss gehaltenen Flüssigkeit lässt man dann aus einer Burette von der Chlorbaryumlösung 1 cc nach dem andern zufliessen, indem man den sich bildenden Niederschlag in der Wärme absitzen lässt, bis man eine deutliche Zunahme des Niederschlags nicht mehr wahrnimmt. Man filtrirt dann von der Flüssigkeit einen kleinen Theil durch ein fingerhutgrosses Filterchen in ein kleines Reagensglas und prüft durch Zusatz einiger Tropfen Chlorbaryumlösung aus der Burette, ob noch ein Niederschlag entsteht. Ist dies der Fall, so giesst man die Flüssigkeit in das Gefäss zurück, spült Filter und Reagensglas mit etwas Wasser nach, setzt noch 1 cc der Chlorbaryumlösung zu, prüft wieder und fährt so fort, bis das Filtrat endlich mit der Chlorbaryumlösung keinen Niederschlag mehr giebt. Jetzt wird eine andere Portion Filtrat mit dem schwefelsauren Kali einen Niederschlag geben. Man hat so ermittelt, dass das ganze zugesetzte Volumen der Chlorbaryumlösung zu viel, das um 1 cc geringere Volumen aber zu wenig war.

Man wiederholt jetzt den Versuch mit einer neuen Probe Harn, der jetzt 1 cc weniger Chlorbaryumlösung zugesetzt wird, als man im ersten Versuch im Ganzen verbraucht hat, filtrirt eine Probe ab und prüft mit 0,1 cc der Barytlösung. Entsteht sogleich eine deutliche Trübung, so vereinigt man wieder das Filtrat mit der Hauptflüssigkeit, setzt noch 0,1 cc Barytlösung zu, prüft abermals das Filtrat und fährt so fort, bis endlich die Chlorbaryumlösung erst nach mehreren Secunden eine sehr schwache Trübung erzeugt. Jetzt prüft man eine zweite Probe des Filtrats mit einigen Tropfen der Kalisulphatlösung; entsteht auch hierdurch nach einigen Secunden eine schwache Trübung, so ist der neutrale Punkt erreicht und damit die Titrirung beendigt.

Sollte man schon bei dem ersten Versuch den Punkt durch zu unvorsichtigen Zusatz der Chlorbaryumlösung weit überschritten haben, so setzt man einige Cubikcentimeter der ganz gleichwerthigen Kalisulphatlösung hinzu und sucht nun durch vorsichtigeres Zusetzen der Barytlösung die Grenze zu treffen. Die Anzahl der zugesetzten Cubikcentimeter der Kalisulphatlösung muss man natürlich bei der Berechnung von den im Ganzen verbrauchten Cubikcentimetern der Barytlösung abziehen. — So langwierig die Operation zu sein scheint, so lässt sie sich doch in einer halben Stunde recht gut ausführen und giebt befriedigende Resultate. Neubauer fand im Mittel von 5 Bestimmungen in 100 cc Harn 0,192 g SO_3 durch Wägen und 0,190 g durch Titriren.

Voit filtrirt keine Proben ab, sondern erhitzt in einem Kolben den mit Salzsäure versetzten Harn zum Kochen, lässt die Chlorbaryumlösung zufliessen, kocht die Flüssigkeit auf, schüttelt um und lässt eine Minute ruhig stehen. Der Niederschlag setzt sich schnell zu Boden und zwar um so schneller, je näher man dem Punkte der vollständigen Fällung kommt. Oberhalb des Niederschlags steht eine ganz klare Flüssigkeit, von der man mit einem dicken Glasstabe 2 Tropfen zur Prüfung herausnimmt. — Wildenstein sowie Brügelmann[1]) entnehmen der Flüssigkeit eine Probe mittelst eines mit einem Filter versehenen Hebers.

Ein anderes von Freund angegebenes Verfahren ist bei der Bestimmung der Sulphatschwefelsäure, III. c. 2., beschrieben.

II. Bestimmung der gepaarten Schwefelsäure.

a. Nach Baumann[2]). Man fällt zuerst bei Gegenwart von Essigsäure die Sulphatschwefelsäure und dann im Filtrat die gepaarte Schwefelsäure. Es werden 50 cc Harn mit Essigsäure, einem gleichen Volumen Wasser und Chlorbaryum im Ueberschuss versetzt und auf dem Wasserbad erwärmt, bis sich der Niederschlag klar abgesetzt hat, was in $^1/_2$—$^3/_4$ Stunde geschehen ist. Der Niederschlag wird abfiltrirt, gewaschen und das Filtrat sammt Waschwasser behandelt wie bei I. 1.

Das lästige Auswaschen des Niederschlags erspart man, wenn man nach der Digestion mit der Essigsäure Flüssigkeit sammt Niederschlag in einen Maascylinder überträgt, auf ein rundes Volumen auffüllt, wenn sich der Niederschlag abgesetzt hat, filtrirt und vom Filtrat ein abgemessenes Volumen zur Bestimmung verwendet.

b. Nach Salkowski[3]). Da sich die essigsaure Flüssigkeit bei dem Verfahren nach a. oft nur ausserordentlich schwer abfiltriren lässt und nicht selten auch der schwefelsaure Baryt theilweise mit durch das Filter geht, so hat Salkowski ein anderes Verfahren in Vorschlag gebracht. Darnach werden 50 oder 100 cc Harn mit dem gleichen Volumen einer Barytmischung ausgefällt, welche aus 2 Volumen kalt gesättigter Barythydratlösung und 1 Volumen kalt gesättigter Chlorbaryum-

---

1) Voit: Bischoff u. Voit, Die Gesetze der Ernährung des Fleischfressers. 1860. S. 268. — R. Wildenstein, Ztschr. f. analyt. Ch. **1.** 432; Fresenius, Quantit. Analyse, 6. Aufl. **1.** 395. — G. Brügelmann, Ztschr. f. analyt. Ch. **16.** 19.

2) Baumann, Ztschr. f. physiol. Ch. **1.** 70; Ztschr. f. analyt. Ch. **17.** 122.

3) E. Salkowski, Virchow's Archiv **79.** 552.

lösung besteht, vom Filtrat 50 oder 100 cc, entsprechend 25 oder 50 cc Harn, mit Salzsäure stark angesäuert und bis nahe zum Sieden erhitzt. Der Niederschlag wird dann weiter behandelt wie bei I. 1.

Kossel[1]) hat die Wahrnehmung gemacht, dass aus Harn, welcher Chinätonsäure enthielt, auf Zusatz von Baryumhydrat ein Doppelsalz von chinätonsaurem Baryt und phenol- oder kresolschwefelsaurem Baryt fiel. Er hält deshalb, bei Gegenwart gepaarter Glykuronsäure im Harn, die Entfernung der Sulphatschwefelsäure durch die Barytmischung für bedenklich, weil dabei auch Aetherschwefelsäure gefällt werden könne.

c. Durch Titriren nach Freund, III. c. 2.

III. Bestimmung der Sulphatschwefelsäure.

a. Durch Wägen. Nach Baumann.

Der nach II. a. aus dem mit Essigsäure versetzten Harn erhaltene Barytniederschlag enthält die Schwefelsäure der schwefelsauren Salze, ist aber stets mehr oder minder stark mit phosphorsaurem Baryt verunreinigt. Er bedarf daher einer sorgfältigen Reinigung mit Salzsäure nach I. 1. Deshalb ist das Verfahren nach b. vorzuziehen.

b. Durch Differenz.

Indirect erfährt man die Menge der Sulphatschwefelsäure, wenn man die Gesammtschwefelsäure und nach II. die gepaarte Schwefelsäure bestimmt und beide Werthe von einander abzieht.

c. Durch Titriren.

1. Die Sulphatschwefelsäure wird sich auch maassanalytisch nach dem I. 2. angegebenen Verfahren bestimmen lassen, wenn man den Harn statt mit Salzsäure, mit Essigsäure versetzt.

2. Nach Freund[2]).

A. Princip. Auf Zusatz von Barytsalz zu einer mit Essigsäure und alizarinmonosulfonsaurem Natron vermischten Sulphatlösung fällt zuerst alle Schwefelsäure und darauf rothes alizarinsulfonsaures Baryum.

B. Erfordernisse.

1. Eine Lösung mit 9,579 g wasserfreiem essigsauren Baryt im Liter: 1 cc zeigt 3 mg SO_3 an. Zur Herstellung von ungefähr 1 Ltr. der Lösung löst man 7—8 g gefällten kohlensauren Baryt unter Zusatz der erforderlichen Menge Essigsäure in der Wärme in weniger als 1 Ltr. Wasser, filtrirt und bestimmt den Gehalt der Lösung an Baryt in der Weise, dass man ein abgemessenes Volumen der Lösung nach Zusatz von überschüssiger verdünnter Schwefelsäure in einem Platintiegel verdunstet, die Schwefelsäure vorsichtig abraucht (in der Lieben'schen Muffel, S. 699) und den Rückstand glüht. Von der richtig gestellten Lösung sollen 24 cc

---

[1]) Kossel, Ztschr. f. physiol. Ch. 7. 296.

[2]) E. Freund, Wiener klin. Wochenschr. 1891. 958; Ztschr. f. analyt. Ch. 31. 481.

0,2101 g $BaSO_4$ geben. Nach dem Ausfall der Analyse bemisst man die Verdünnung. Bei Verwendung von käuflichem essigsauren Baryt stellt man gleichfalls zuerst eine concentrirtere Lösung her und ermittelt ihren Gehalt in angegebener Weise. Eine Verunreinigung des Salzes mit Chlorbaryum stört weder die Gehaltsbestimmung der Lösung noch die Bestimmung der Schwefelsäure.

2. 5 proc. Essigsäure.

3. Eine 1 proc. wässrige Lösung von alizarinmonosulfonsaurem Natron (Alizarinroth S der Badischen Anilin- und Sodafabrik in Ludwigshafen).

C. Ausführung. Es werden 50 cc Harn mit 10 Tropfen der Alizarinrothlösung versetzt, wodurch er eine rothe Färbung annimmt (S. 31). Man fügt tropfenweise so viel von der 5 proc. Essigsäure zu, bis der letzte Stich einer Rothfärbung verschwunden ist und fügt dann noch 5 cc der Essigsäure hinzu. Darauf wird der bis nahe zum Sieden erhitzte Harn so lange mit der Barytlösung versetzt, bis eine unzweifelhafte Rothfärbung eingetreten ist, die man am Besten im auffallenden Licht gegen einen dunklen Hintergrund wahrnimmt. Bei Gaslicht lässt sich die Bestimmung nicht ausführen. In verschiedenen Harnen hat Freund titrirt 76,8, 88,5 und 83,2 mg SO_3, gewogen 75,6, 86,3 86,6 mg.

Bei dunklen concentrirten Harnen lässt sich die Störung durch die Eigenfarbe des Harns beseitigen durch Verdünnen auf das 2—3 fache. — Nicht concentrirte dunkle Harne sollen durch Erwärmen mit etwas Zinkstaub in einer Schale, wenn nöthig unter Zusatz von etwas Essigsäure entfärbt werden. Das in Lösung gegangene Zink fällt man heiss durch Zusatz von 10 proc. kohlensaurem Natron bis zu deutlich alkalischer Reaction; der Niederschlag wird mehrmals mit heissem Wasser ausgewaschen. Durch Alizarinroth wird die alkalische Flüssigkeit dunkelviolett: man neutralisirt daher nahezu mit Salzsäure und setzt dann erst Essigsäure zu. — Die Rothfärbung kommt dadurch zu Stande, dass sich der Farbstoff auf dem Baryumsulphat niederschlägt, sie ist darum in schwefelsäurearmen Harnen schwach; solche Harne werden zweckmässig vor dem Titriren concentrirt. — Icterischer Harn lässt sich nach Modigliano durch Permanganat unter Zusatz von Salpeter- oder Salzsäure entfärben (B. I. C. a. S. 707); das Filtrat ist zu neutralisiren. Eiweisshaltiger Harn soll durch Kochen mit Zinkstaub und Essigsäure vom Eiweiss befreit werden.

Das Verfahren ist nach Freund auch zur Bestimmung der Gesammtschwefelsäure geeignet.

Es werden 50 cc Harn in einer Schale mit Salzsäure über der Flamme erhitzt, dann zur Entfernung der entstandenen dunklen Farbstoffe 1—2 Min. mit einem kleinen Löffelchen Zinkstaub gekocht. Dann wird weiter so verfahren, wie oben bei der Entfärbung des nativen Harns durch Zinkstaub angegeben. An Gesammtschwefelsäure hat Freund titrirt 85, 97, 104 mg SO_3, gewogen 83,4, 95,9, 106 mg.

IV. Bestimmung des »neutralen« Schwefels.

Ausser der Schwefelsäure in den beiden Formen enthält der Harn noch andere schwefelhaltige Verbindungen (S. 16), und zwar leicht und schwer oxydirbare. Man bestimmt sie in der Weise, dass man sie in Schwefelsäure überführt und die Menge dieser ermittelt. Das Verfahren ist verschieden, je nachdem die Gesammtmenge oder nur die leicht oxydirbare Substanz bestimmt werden soll.

I. Bestimmung des gesammten neutralen Schwefels.

Man kann so verfahren, dass man den Harn direkt oxydirt und von der gefundenen Menge Schwefelsäure diejenige abzieht, welche sich bei der Bestimmung der Gesammtschwefelsäure in einer anderen Portion Harn ergeben hat; oder man befreit den Harn nach 1. 1. von der gesammten Schwefelsäure und verwendet das Filtrat zur Oxydation. Von normalem Harn verwendet man 50 cc Harn zur Bestimmung, von Cystinharn genügen 25 cc.

a. Durch Schmelzen mit Salpeter und Soda.

Der eingedampfte Rückstand wird mit einem Gemisch von 3 bis 4 Theilen Salpeter und 1 Theil Soda, welche beide frei von Schwefelsäure sein müssen, in einer Silber- oder Platinschale weiss gebrannt, die Schmelze durch mindestens 3 maliges Eindampfen (bei Verwendung von 50 cc Harn) mit 100 cc Salzsäure in einer Porzellanschale von der Salpetersäure befreit und in der filtrirten Lösung nach einer der oben angeführten Methoden, am Besten durch Wägung, die Schwefelsäure bestimmt.

Die Entfernung der Salpetersäure durch Abrauchen mit Salzsäure vor dem Fällen mit Chlorbaryum ist darum nöthig, weil sich sonst dem Niederschlag des Baryumsulphats diesem hartnäckig anhaftendes Baryumnitrat beimengt.

Die Oxydation geht nach Savelieff weit schneller von Statten, wenn man die Mischung von Salpeter und Soda in den eingedampften Harn einträgt, als wenn man sie mit dem Harn eindampft. — Nimmt man die Oxydation in einem Silbertiegel vor, so tritt nach Moreigne starkes Schäumen ein, und es verspritzt leicht Substanz; auch wird der Tiegel angegriffen. In einem Porzellantiegel erfolgt die Oxydation ruhiger, aber Meissner und Berliner Tiegel springen regelmässig beim Erkalten ringförmig da, bis wohin die Schmelze reicht. Tiegel von Bayeux widerstehen, wohl weil sie dickwandiger sind. Dieser Uebelstand wird vermieden, wenn man das Schmelzen, statt mit Kalisalpeter, mit der äquivalenten Menge (84%) Natronsalpeter vornimmt. Die beim Schmelzen in Porzellan in Lösung gehende Kieselsäure wird beim Eindampfen mit der Salzsäure entfernt. — Statt der Soda lässt sich auch Kaliumhydrat verwenden, doch ist Soda leichter schwefelfrei zu erhalten; Mester[1]) verwendet auf 25 cc Cystinharn je 3 g Kalisalpeter und ebensoviel Natriumhydrat.

Für die Bestimmung des neutralen Schwefels nach der Entfernung der Gesammtschwefelsäure giebt Salkowski[2]) ein Verfahren an, das verschieden ist, je nachdem der Harn unterschweflige Säure enthält oder nicht.

Bei Abwesenheit von unterschwefliger Säure wird das Filtrat von 50 cc ausgefälltem Harn sammt dem Waschwasser zur Trockne verdunstet. die wässrige Lösung des Rückstands nach Zusatz der Salpetermischung in einer Platinschale zur Trockne gebracht und der Rückstand bei niederer Temperatur geschmolzen. Die Schmelze löst man in Wasser, filtrirt die Lösung vom kohlensauren Baryt ab und wäscht diesen mit Wasser aus. Der kohlensaure Baryt muss sich darnach vollständig in Salzsäure lösen; ist dies nicht der Fall, so ist ihm noch schwefelsaurer Baryt beigemengt und er muss durch abermaliges Schmelzen

---

1) N. Savelieff, Virchow's Archiv **136**. 197. 1894. — H. Moreigne, Bull. de la Soc. chim. [3] **11**. 975. 1894. — B. Mester, Ztschr. f. physiol. Ch. **14**. 119. 1889.

2) Salkowski, Virchow's Archiv **58**. 469.

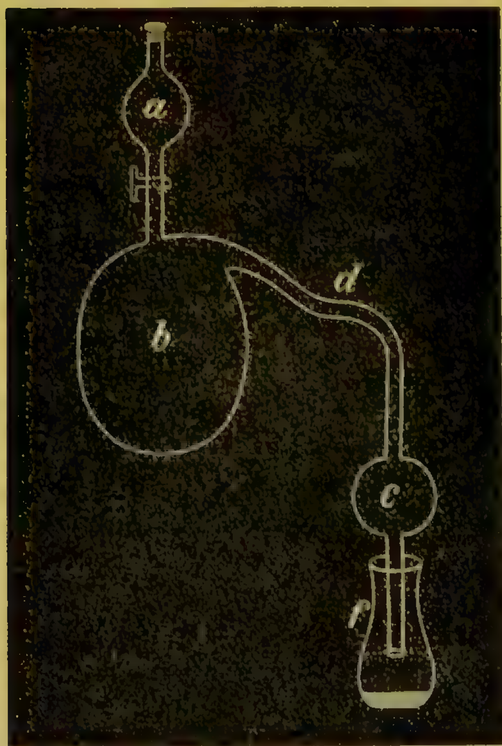
mit kohlensaurem Natron vollends aufgeschlossen werden. In dem Filtrat und dem Waschwasser führt man dann die Bestimmung der Schwefelsäure in angegebener Weise aus. — Bei Gegenwart von unterschwefliger Säure wird der Harn direkt mit der Salpetermischung oxydirt.

b. Durch Oxydation mit Salpetersäure.

1. Nach Mohr[1]) werden 10 cc Harn in einer Porzellanschale verdunstet; nach dem Erkalten wird der Rückstand mit 10—15 cc concentrirter Salpetersäure einige Stunden stehen gelassen und, damit bei der ziemlich heftigen Reaction Nichts verspritzt, ein Trichter über die Schale gestülpt. Darnach wird noch einige Zeit im Wasserbade erhitzt, zuletzt, um die Salpetersäure vollständig zu verjagen, nach Entfernung des Trichters. Der Rückstand wird endlich zur Abscheidung der Kieselsäure und zur gänzlichen Entfernung der Salpetersäure einige Male mit Salzsäure eingedampft und das Filtrat mit Chlorbaryum gefällt.

Beim Menschenharn stimmen die Zahlen mit den nach Carius erhaltenen überein, beim Pflanzenfresserharn fallen sie um eine unbedeutende Grösse kleiner aus als beim Schmelzen mit Salpeter oder nach Carius.

Fig. 50.



Pflanzenfresserharn scheidet ölige Nitroprodukte ab, die mit durch das Filter gehen; sie lösen sich aber beim Erwärmen der Flüssigkeit und lassen sich so grösstentheils vom Baryumsulphat trennen. Der Rest verbrennt; das Sulphat muss daher zuletzt noch mit Schwefelsäure benetzt und geglüht werden.

2. Schulz[2]) verfährt wie Mohr, nur nimmt er die Oxydation in einem retortenartigen Gefäss vor.

Die 200 cc fassende Retorte aus hartem Glas hat statt des Tubulus ein Trichterrohr mit Hahn. Der Hals der Retorte ist lang und dünn ausgezogen und nach abwärts gebogen. Das Ende taucht in Wasser, das sich in einem Becherglas befindet; etwas über dem unteren Ende ist eine Kugel angeblasen zur Aufnahme rücksteigender Flüssigkeit. (Die Retorten können von Greiner u. Friedrichs in Stützerbach, Thüringen, bezogen werden.)

In die Retorte werden durch das Trichterrohr 10 cc Harn gefüllt, die haften gebliebene Flüssigkeit mit wenig Wasser nachgespült. Sie wird dann in ein Sandbad gestellt und der Schnabel in das vorgelegte Wasser getaucht. Dann lässt man 10 cc rauchende Salpetersäure bis auf einen kleinen über dem Hahn bleibenden

---

1) P. Mohr, Ztschr. f. physiol. Ch. **20**. 556. 1895.
2) H. Schulz, Pflüger's Archiv **57**. 57. 1894.

Rest nachfliessen und erhält die Destillation so lang im Gang, bis keine Schwefelsäure (in öligen Streifen) mehr übergeht. Nach dem Erkalten wird die schneeweisse Schmelze in der Retorte in mässig verdünnter Salzsäure gelöst, mit dem Destillat vereinigt und die Schwefelsäure als Barytsalz ausgefällt. Nach diesem Verfahren wird ziemlich genau so viel Schwefel gefunden, wie nach Carius oder beim Schmelzen mit Salpeter.

Auf Harn von 1,030 Dichte nimmt man dasselbe Volumen Salpetersäure. Concentrirterer Harn ist entweder zu verdünnen oder mit mehr Salpetersäure zu versetzen.

c. Durch Oxydation mit Natriumsuperoxyd.

Schwefelhaltige Substanzen lassen sich nach Hempel und nach Clark[1]) leicht mit Natriumsuperoxyd oxydiren. Das Verfahren ist noch nicht auf den Harn angewendet worden, dürfte aber leicht ausführbar sein und empfiehlt sich namentlich durch die Freiheit des Produkts von Salpetersäure.

Natriumsuperoxyd kann von de Haën in List vor Hannover bezogen werden. Reines Superoxyd wirkt mit explosionsartiger Heftigkeit ein; es muss daher mit Soda verdünnt werden. Hempel verwendet dazu die Hälfte des Superoxyds, Asbóth[2]) die doppelte Menge an Soda. Platin wird von der schmelzenden Substanz stark angegriffen; man oxydirt daher in einem Silber- oder Porzellantiegel. Asbóth bringt die Mischung in einen Nickeltiegel, erhitzt ihn so, dass die Flamme den Tiegel nicht berührt, bis die Substanz zu schmelzen beginnt und verstärkt dann die Flamme bis zum vollen Schmelzen. Nach dem Erkalten wird die Schmelze in Wasser gelöst, die Lösung filtrirt, mit Salzsäure angesäuert und mit Chlorbaryum ausgefällt. Asbóth säuert mit bromhaltiger Salzsäure an und kocht das Brom weg. Die Kieselsäure, welche bei Verwendung von Porzellantiegeln in die Schmelze gelangt, entfernt man durch Eindampfen mit Salzsäure.

Die Oxydation lässt sich nach Edinger[3]) auch auf nassem Wege ausführen, wobei die Reaction ruhiger verläuft als beim Schmelzen und die Gefässe nicht merklich angegriffen werden. Die Substanz wird in einer Schale mit einer möglichst concentrirten wässrigen Lösung von Natriumsuperoxyd bis zur öligen Consistenz eingedampft und dann über einer ganz kleinen Flamme weiter erhitzt. Wenn die Masse sich schwarz zu färben anfängt, setzt man noch einige Tropfen Superoxydlösung hinzu und kocht dann noch in einer möglichst concentrirten Superoxydlösung auf dem Wasserbade aus. Nach $^1/_4$ Stunde säuert man die klare Lösung mit Salzsäure an und fällt mit Chlorbaryum.

2. Bestimmung des leicht oxydirbaren Schwefels.

Der leicht oxydirbare Schwefel wird nach Lépine durch Behandeln mit chlorsaurem Kali und Salzsäure oder mit Brom in Schwefelsäure übergeführt. Lépine zieht das Brom dem Chlor vor. Jerome[4]) verfuhr bei der Bestimmung in folgender Weise.

Es wurden 50 cc (Hunde-) Harn mit 40 g chlorsaurem Kali in einem Kolben auf dem Sandbad erwärmt und in die Mischung im Verlaufe längerer Zeit nach

---

1) W. Hempel, Ztschr. f. anorg. Ch. **3**. 193; Ztschr. f. analyt. Ch. **34**. 71. — Clark, Journ. of the chem. Soc. 1893. **1**. 1079.

2) A. v. Asbóth, Chemikerztg. **19**. 2040; Chem. Centralbl. 1896. **1**. 66.

3) A. Edinger, Berichte d. chem. Gesellsch. **28**. 427; Ztschr. f. analyt. Ch. **34**. 366. 1895.

4) W. J. S. Jerome, Pflüger's Archiv **60**. 248. 1895.

und nach 100 cc Salzsäure eingetragen; dann wurde die Lösung in einer Schale zur Trockne verdunstet, über dem Rückstand 3mal 100 cc Salzsäure abgeraucht und die filtrirte Lösung mit Chlorbaryum gefällt. Derselbe Harn ergab dabei 0,0799 und 0,0797 g $BaSO_4$.

V. Bestimmung einzelner schwefelhaltiger Verbindungen.

1. Des Rhodanwasserstoffs.

a. Als Silberverbindung.

1. Lang[1]) titrirte zuerst den Harn nach Volhard (dieser §. B. I. S. 705) und ermittelte so die Menge des vorhandenen Chlors und Rhodans; dann wurde ein anderer Antheil Harn mit Salpeter wie bei B. II. C. a. S. 709 verascht und in der Schmelze das Chlor allein bestimmt. Die Differenz ergab die Menge des Rhodans. Harn zugesetztes Rhodanid liess sich scharf wiederfinden.

Oder es wurde dem stark angesäuerten Harn der Rhodanwasserstoff durch Aether entzogen, an Alkali gebunden und die Lösung nach Volhard titrirt wie bei der Silberbestimmung. Zur Extraction mit Aether lässt sich der Apparat von Schwarz (S. 185) verwenden.

2. Munk[2]) fällte 100 cc Harn unter Zusatz von Salpetersäure und Silbernitrat vollständig aus, wusch den Niederschlag und bestimmte in ihm durch Schmelzen mit Soda und Salpeter den Schwefel. Aus der Menge desselben wird die Menge des Rhodanwasserstoffs berechnet.

b. Colorimetrisch.

1. Gscheidlen[3]) dampfte 50 cc Harn auf ein Drittel ein, versetzte den Rückstand mit Kalkmilch, säuerte das Filtrat an und fügte ihm einige Tropfen Eisenchlorid hinzu. Diese Lösung wurde in planparallelen Glaskästchen von gleichem Durchmesser mit einer Rhodankaliumlösung verglichen, welche im cc 0.0167 g getrocknetes Salz enthielt und mit Eisenchlorid bis zu vollständiger Rothfärbung versetzt war. Diejenige der beiden Lösungen, welche stärker gefärbt war, wurde mit zugemessenen Mengen Wasser bis zur Farbengleichheit verdünnt und aus der Concentration die Menge des Rhodankaliums berechnet. Dieses Verfahren kann keinen grossen Anspruch auf Genauigkeit machen (vgl. §. 62. 4. IV.).

2. Bruylants[4]) engte 200 cc Harn mit einem leichten Ueberschuss von Soda auf 40 cc ein, schüttelte den Rückstand nach Zusatz von 10 cc concentrirter Salzsäure 3mal mit 20—25 cc Aether, entfärbte mit Thierkohle und schüttelte den Aether 3mal mit einer 1 proc. Eisenchloridlösung. Die so erhaltenen rothen Flüssigkeiten wurden vereinigt zur colorimetrischen Bestimmung verwendet. Auch dieses Verfahren kann keine genauen Resultate geben.

2. Des cystinähnlichen Körpers.

Dieser (und das Cystin selbst) lässt sich durch Benzoylchlorid abscheiden (S. 277) und sein Schwefel durch Schmelzen mit Soda und Salpeter bestimmen.

---

1) S. Lang, Archiv f. exper. Pathol. **34**. 253. f. 1894.
2) I. Munk, Virchow's Archiv **69**. 358. u. 351. 1877.
3) R. Gscheidlen, Pflüger's Archiv **14**. 408. 1877.
4) J. Bruylants, Bull. de l'Acad. de méd. de Belgique [4] **2**. 18; Jahresb. f. Thierch. 1888. 135.

F. Bestimmung der Phosphorsäure[1].

A. Princip. Harn, welcher die Phosphate nur als zweifach saure enthält, wird so lange mit einer Lösung von essigsaurem oder salpetersaurem Uranoxyd versetzt, bis die erste Spur überschüssigen Uransalzes in der Flüssigkeit nachweisbar ist. Eine Lösung von salpetersaurem Uranoxyd ist einer von essigsaurem Uran vorzuziehen, weil die salpetersaure Lösung beim Stehen weniger leicht basisches oder phosphorsaures Salz absetzt, als die essigsaure, ihren Titer also leichter unverändert erhält. Bei der Verwendung von salpetersaurem Uran wird Salpetersäure frei (S. 25), welche von dem gefällten Uranphosphat einen kleinen Theil in Lösung bringt; um dies zu verhindern, wird beim Titriren mit salpetersaurem Uran dem Harn etwas essigsaures Natron zugesetzt. Um sicher zu sein, dass der Harn nur zweifach saures Phosphat enthält, fügt man ihm noch (eine bestimmte Menge) Essigsäure hinzu.

Als Indicator dient der Flüssigkeit zugesetzte Cochenilletinctur, welche mit der überschüssigen Uranlösung einen grünen Niederschlag giebt. Man titrirt die nahezu siedend heisse Flüssigkeit, weil sich in der Wärme die Bildung des Uranphosphats wesentlich schneller vollzieht als in der Kälte und weil die Endreaction in der Wärme schärfer ausfällt als in der Kälte; eine in der Kälte schwach oder zweifelhaft grüne Probe wird in der Siedehitze entschieden grün.

Die Verwendung der Cochenilletinctur als Indicator ist von Malot eingeführt, von Mercier[2]) als auch für die Titrirung der Phosphorsäure im Harn geeignet erkannt und dadurch die seither übliche umständliche Verwendung des Ferrocyankaliums zur Endreaction entbehrlich geworden. Titrirungen unter Verwendung von Cochenilletinctur ergeben dieselben Resultate als die nach dem älteren Verfahren. Wenn dauernde Grünfärbung eingetreten ist, lässt sich mit Ferrocyankalium noch kein Uranoxyd nachweisen, sondern erst, wenn man noch einige Tropfen Uranlösung hinzufügt.

Veraschen des Harns ist zur Titrirung der Phosphorsäure nicht nöthig. Genauer werden aber nach Neubauer die Resultate, wenn man den Harn mit Magnesiamischung ausfällt, den Niederschlag auf einem kleinen Filter mit ammonhaltigem Wasser (1 Volumen 10 proc. Ammoniak und 3 Volumen Wasser) auswäscht, in Essigsäure löst, die Lösung auf 50 cc bringt und unter Zusatz von essigsaurem Natron wie den Harn titrirt; Neubauer fand dann unter Verwendung von Ferrocyankalium als Indicator auf die Tagesmenge Harn 0,15—0,2 g P_2O_5 weniger, als beim direkten Titriren des Harns. Nach dem abgeänderten Verfahren erhielt Mercier in zahlreichen Versuchen mit der Gewichtsanalyse übereinstimmende Resultate.

Nach Mercier stören Zucker oder Eiweiss die Reaction nicht.

---

[1]) Neubauer, Archiv f. wissensch. Heilk. **4**. 228. 1859; **5**. 319. 1860. — Pincus, Virchow's Archiv **16**. 137. 1859. — Boedeker, Ann. d. Ch. u. Pharm. **117**. 197. 1861.

[2]) Ch. Malot, Chem. Centralbl. 1887. 873 u. 1181. — J. Mercier, daselbst 873.

Wie Broockmann nachgewiesen und Haswell[1]) bestätigt hat, ist der Titer der Uranlösung kein constanter, sondern wächst mit dem verbrauchten Volumen der Uranlösung. Wenn nach Broockmann bei dem Verbrauch von 20 cc 1 cc 4,98 mg P_2O_5 anzeigt, zeigt der Cubikcentimeter bei dem Verbrauch von 21 cc genau 5,0 mg, von 40 cc 5,140 mg P_2O_5 an; nach Haswell entspricht der Titer bei 1,2 cc Uranlösung 4,167 mg P_2O_5, bei 18—20 cc 5,0 mg. Beide Autoren haben die Titerwerthe tabellarisch angegeben.

B. Bereitung der Lösungen.

Die Uranlösung muss auf eine Phosphatlösung gestellt werden, welche ungefähr so viel Phosphorsäure enthält, als normaler Harn im Durchschnitt.

1. Die Phosphatlösung soll in 50 cc genau 0,1 g P_2O_5 enthalten. Sie lässt sich durch Lösen einer abgewogenen Menge reinen Natronphosphats in der berechneten Menge Wasser oder durch Titriren einer Phosphatlösung herstellen.

a. Durch Wägung. Die Lösung soll 10,0845 g gewöhnliches krystallisirtes Natronphosphat, Na_2HPO_4, 12 H_2O, im Liter enthalten. Das käufliche phosphorsaure Natron wird so oft umkrystallisirt, bis es chlorfrei ist (mit salpetersaurem Silber und Salpetersäure keinen Niederschlag mehr giebt); die Krystalle lässt man in einem mit Papier bedeckten Trichter, dessen Schnabel mit Glaswolle verstopft ist, unter häufigem Umrühren so weit trocknen, bis ihnen äusserlich keine Mutterlauge mehr anhaftet. Da einerseits dieser Punkt schwer zu bestimmen ist, die Krystalle andererseits aber auch leicht verwittern, so wägt man die Krystalle nicht direkt ab, sondern berechnet das Gewicht der Krystalle, die gelöst werden sollen, aus dem Gewicht Pyrophosphat, welche eine abgewogene Menge Krystalle beim Glühen hinterlässt (C. Schumann). Man zerreibt die Krystalle möglichst gleichmässig in einer Reibschale, wägt eine Portion davon in einem Platintiegel ab, entwässert zuerst vollständig unter 100°, glüht darauf und wägt nach dem Erkalten. Bedeutet P das Gewicht des abgewogenen Salzes, p das Gewicht des geglühten Salzes, so ist $\frac{P}{p} \cdot \frac{2 \times 133}{71} = \frac{P}{p} \cdot 3{,}7465$ diejenige Menge des Salzes, welche zu einem Liter gelöst werden muss, wenn 50 cc der Lösung 0,1 g P_2O_5 enthalten sollen.

b. Durch Titriren. Die umständliche Reindarstellung des Natronphosphats kann man ersparen, indem man käufliches Natronphosphat unter Verwendung von Alizarinroth (S. 31) mit 0,1 n Salzsäure titrirt. Der Phosphatlösung wird eine solche Concentration ertheilt, dass zu 27 cc derselben 7,6 cc, oder zu 38 cc 10,7 oder zu 49 cc 13,9 cc der Salzsäure verbraucht werden, um das einfach saure Phosphat gerade in zweifach saures überzuführen. Bis dahin soll die Lösung noch braun sein, ein Tröpfchen Säure mehr aber das Umschlagen der Farbe in Citronengelb bewirken. Die Titrirung mit Methylorange oder Cochenille ist minder scharf.

2. Eine Lösung von 100 g essigsaurem Natron und 30 g Essigsäure im Liter. Auf 50 cc Harn verwendet man 5 cc dieser Mischung. Sie enthält so viel Essigsäure, dass alle Phosphate des Harns in saure übergeführt werden und nach Neubauer's vielfachen Versuchen auch die genügende Menge essigsaures Natron, um alle frei werdende Salpetersäure zu binden.

3. Cochenilletinctur. Man verwendet die Lösung, deren Bereitung S. 30 angegeben ist oder einen mit Alkohol allein bereiteten Cochenilleauszug.

4. Uranoxydlösung. Diese soll im Liter 35,461 g Urannitrat, $UO_2(NO_3)_2$ 6 H_2O oder 29,969 g Uranacetat $UO_2(C_2H_3O_2)_2$ 2 H_2O enthalten. Man löst die Salze in etwas weniger als 1 Ltr. Wasser, titrirt die Lösung auf die Phosphatlösung und verdünnt nach dem Ausfall dieser Titration. Der Urannitratlösung setzt man vor

---

1) K. Broockmann, Repert. d. analyt. Ch. **1**. 212; Ztschr. f. analyt. Ch. **22**. 90. — A. E. Haswell, Repert. d. analyt. Ch. **2**. 251; Ztschr. f. analyt. Ch. **22**. 91.

der Titerstellung einige (3) g Natriumacetat hinzu, um die freie Salpetersäure zu binden, von welcher das Salz meist kleine Mengen enthält. Das Uranacetat enthält häufig noch Uranphosphat, welches sich beim Stehen der Lösung abscheidet, wodurch der Titer falsch wird; sie bewahrt nach Malot ihren Titer besser, wenn man sie, um das Uranphosphat niederzuschlagen, einige Stunden im Sieden erhält.

5. Titerstellung. Von der Uranlösung soll 1 cc 5 mg P_2O_5 anzeigen oder es sollen von ihr zur Titrirung von 50 cc der Phosphatlösung (1) genau 20 der Uranlösung verbraucht werden. Man misst 50 cc der Phosphatlösung in ein Kölbchen, fügt 5 cc der Acetatlösung (2) sowie einige Tropfen der Cochenilletinktur (3) hinzu, erhitzt zum Sieden und lässt von der Urannitratlösung so lang zufliessen, bis die umgeschüttelte und wieder zum Sieden erhitzte Mischung dauernd schwach aber deutlich grün geworden ist. Schon die ersten in die Flüssigkeit gelangenden Tropfen rufen eine bläulichgrüne Färbung hervor, welche aber beim Umschwenken des Kölbchens wieder verschwindet; aus der dauernd grünen Mischung setzt sich die grüne Verbindung des Uranoxyds mit dem Cochenillefarbstoff zugleich mit dem Uranphosphat zu Boden und dieses erscheint dunkelgrün gefärbt. Die Färbung, welche man am Sichersten an dem zu Boden gesunkenen Niederschlag wahrnimmt, soll nur schwach, am Besten gerade sichtbar sein. Im Halse des Kölbchens hängen gebliebene Phosphat- oder Uranlösung muss vor dem Eintreten der Endreaction abgespritzt werden. Dann verdünnt man die Uranlösung so, dass zur Titrirung von 50 cc Phosphatlösung genau 20 cc der Uranlösung erforderlich sind. Hat man z. B. 19,3 cc der Uranlösung verbraucht, so setzt man zu der übrigen Lösung auf je 19,3 cc noch 0,7 cc Wasser zu. Man hat sich jedoch noch durch einen neuen Versuch zu überzeugen, ob die Lösung nun auch den richtigen Titer besitzt. Hat man mehr als die verlangten 20 cc verbraucht, ist die Lösung also zu verdünnt, so dampft man sie ein Stück ein und beginnt die Titerstellung aufs Neue.

Bei der Verwendung von Uranacetat ist der Zusatz von Natriumacetat nicht zu unterlassen, weil das Uranphosphat nach Malfatti[1]) in Folge des mangelnden Salzgehaltes schleimig ausfällt und die Endreaction dann zu früh auftritt.

C. Ausführung. Bei der Bestimmung des Phosphorsäuregehalts des Harns verfährt man mit 50 cc Harn genau ebenso, wie bei der Titerstellung der Uranlösung mit der Phosphatlösung. Man lässt anfangs so lang Uranlösung zufliessen, als man einen Niederschlag auftreten sieht, und titrirt von da an mit kleinen Mengen Uranlösung weiter bis zum Eintritt der Endreaction. Die auf Seite 732 erwähnte Verschiedenheit im Titer der Uranlösung ist nur bei solchen Bestimmungen zu berücksichtigen, wo eine möglichst grosse Genauigkeit angestrebt wird. Wenn die Uranlösung beim Aufbewahren einen Niederschlag gegeben hat, so ist ihr Titer vor dem Gebrauch aufs Neue festzustellen und die Analyse nach dem neuen Titer zu berechnen.

Mit stark gefärbtem, namentlich icterischen Harne, lässt sich die Be-Bestimmung nur schwer oder gar nicht ausführen, weil man den Eintritt der Grünfärbung nicht sicher erkennt. Man kann solchen Harn nach Modigliano nach dem Ansäuern mit Salz- oder Salpetersäure durch Permanganat entfärben (B. I. C. a. S. 707), muss aber das Filtrat vor der Titrirung nahezu neutralisiren. Oder man nimmt die Endreaction nicht mit Conchenille vor, sondern mit Ferrocyankalium, welches mit dem überschüssigen Uransalz einen braunen Niederschlag giebt. Man bringt einen Tropfen der 10 proc. Ferrocyankaliumlösung auf eine Porzellan-

---

[1]) H. Malfatti, Ztschr. f. physiol. Ch. **16**. 83. 1891.

platte oder auf eine mit weissem Papier unterlegte Glastafel und lässt einen Tropfen Harn, den man mit einem Glasstab aus dem Kölbchen nimmt, hinzutreten. Die Titration ist vollendet, wenn die ersten Spuren einer Braunfärbung sichtbar werden.

G. Bestimmung des zweifach und des einfach sauren Phosphats neben einander. Bestimmung der Acidität.

Nach Freund[1]).

A. Princip. Aus einer Lösung von einfach saurem Phosphat fällt Chlorbaryum einfach sauren Baryt, während zweifach saures Phosphat in der Verdünnung, wie es im Harn vorkommt, mit Chlorbaryum keinen Niederschlag giebt. Die nach dem Fällen des Harns mit Chlorbaryum in Lösung bleibende, dem zweifach sauren Phosphat angehörige Phosphorsäure lässt sich mit Uranlösung titriren. Hat man den Gesammtphosphorsäuregehalt des Harns ermittelt, so ergiebt die Differenz zwischen dieser Grösse und der Menge der im zweifach sauren Phosphat enthaltenen Phosphorsäure die Menge der dem einfach sauren Phosphat angehörigen Phosphorsäure.

Die Bestimmung ist nicht genau, hauptsächlich deshalb, weil sich ein Theil des einfach sauren Phosphats mit dem Chlorbaryum zu normalem Phosphat umsetzt, welches ausfällt, und zu zweifach saurem Phosphat, welches in Lösung bleibt (S. 32). Das zweifach saure Phosphat erfährt also einen Zuwachs. Bei einer Concentration der Phosphate, wie sie im Harn vorkommt, beträgt der Fehler nach Freund und nach Lieblein 3% der im einfach sauren Phosphat enthaltenen Phosphorsäure. — Die von de Jager[2]) aufgefundene Thatsache, dass Chlorcalcium aus einfach saurem Alkaliphosphat normales Calciumphosphat niederschlägt, beeinträchtigt die Bestimmung des zweifach sauren Phosphats im Harn nicht.

Lieblein[3]) hat gezeigt, dass der Zusatz selbst schwacher Säuren (Essigsäure, Tetraoxalat) zu einem Gemisch von einfach- und zweifach saurem Phosphat die Menge der in dem zweifach sauren Phosphat enthaltenen Phosphorsäure um die äquivalente Grösse vermehrt. Durch die Ermittelung der Menge der in einem Phosphatgemisch, wie Harn, als zweifach saures Phosphat enthaltenen Phosphorsäure bestimmt man in Wirklichkeit, nach Lieblein, nicht diese allein, sondern alle sauer reagirenden Substanzen in der Form dieser Säure. Die Bestimmung derselben ergiebt sonach einen genauen numerischen Ausdruck für die Acidität des Harns.

B. Erfordernisse.

Dieselben wie für die Bestimmung der Gesammtphosphorsäure im vorhergehenden Abschnitt, ausserdem

Chlorbaryumlösung mit 100 g $BaCl_2$, 2 H_2O im Liter.

---

1) E. Freund, Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1892. 689.

2) E. Freund, Ztschr. f. physiol. Ch. **19**. 100. 1894. — V. Lieblein, daselbst **20**. 66. 1894. — L. de Jager, Ztschr. f. physiol Ch. **24**. 303. 1898.

3) Lieblein, a. a. O. 73.

C. Ausführung. In 50 cc Harn wird die Gesammtphosphorsäure nach F. (Seite 733) bestimmt. Ferner werden 75 cc Harn mit der Chlorbaryumlösung auf 90 cc aufgefüllt, umgeschüttelt und filtrirt. Anfangs geht die Flüssigkeit trüb durch das Filter. Man giesst sie so oft wieder auf, bis das Filtrat völlig klar ist; ein trübes Filtrat giebt zu hohe Werthe für die Phosphorsäure. Vom Filtrat werden 60 cc (= 50 cc Harn) für eine zweite Phosphorsäurebestimmung verwendet. Bei der Berechnung werden 3 % von der für die Phosphorsäure des einfach sauren Phosphats gefundenen Zahl von dieser Phosphorsäure abgezogen und der Phosphorsäure des zweifach sauren Phosphats hinzugezählt.

Als Maass der Acidität gilt der auf das zweifach saure Phosphat entfallende Antheil der Gesammtphosphorsäure.

Für die Aufstellung des Verhältnisses ist es nicht nöthig, die gefundene Phosphorsäure zu berechnen; man kann dazu sogleich die verbrauchten Volumina der Uranlösung verwenden.

H. Bestimmung der Kohlensäure.

1. Durch Evacuiren mit der Quecksilberluftpumpe und Analyse des gesammelten Gases.

Die aus dem nativen Harn gewonnene Kohlensäure wird als freie, die darauf nach Zusatz von Säure evacuirte als gebundene Kohlensäure bezeichnet.

2. Mittelst Durchleiten von Luft.

Wurster und Schmidt[1]) saugen durch den Harn einen lebhaften Strom von Kohlensäure befreiter Luft, leiten diese durch Barytwasser von bekanntem Gehalt und titriren es wieder nach Pettenkofer mit Curcumapapier. Die Kohlensäure sei in $\frac{1}{2}$—1 Stunde vollständig ausgetrieben. Lieblein[2]) konnte durch einen lebhaften Luftstrom die Kohlensäure aus 50 cc Harn noch nicht in 6 St. vollständig entfernen. Diese Kohlensäure ist die im Harn gelöst enthaltene und diejenige, welche durch Einwirkung des zweifach sauren Phosphats auf die Carbonate des Harns frei wird (S. 36).

3. Indirekt nach Lieblein.[3])

Versetzt man eine Mischung von einfach saurem und zweifach saurem Phosphat mit mässigen Mengen einer Säure, so nimmt die Menge der Phosphorsäure im zweifach sauren Phosphat äquivalent der zugesetzten Säuremenge zu (vergl. G.). Führt man einen solchen Versuch mit Harn aus, so bleibt die neu gebildete Menge des zweifach sauren Phosphats hinter der Erwartung zurück. Die zur Bildung von zweifach saurem Phosphat nicht verbrauchte Menge Säure ist bei der Zersetzung des Carbonats gebunden worden. Um sicher zu gehen, versetzt man den Harn mit zwei verschiedenen Mengen Säure, wobei der Ausfall an zweifach saurem Phosphat derselbe bleiben muss. Lieblein fand bei Zusatz von 0,4 und 0,8 cc $\frac{1}{8}$ n Essigsäure zu 50 cc Harn beide Male 2,2 mg weniger Phosphorsäure des zweifach sauren Phosphats, als die Rechnung erforderte. Aus der Differenz liesse sich die Kohlensäure berechnen. Die gefundene Kohlensäure stammt aus den Carbonaten.

---

1) C. Wurster u. A. Schmidt, Centralbl. f. Physiol. **1**. 422. 1887.
2) Lieblein, a. a. O. 77.
3) Lieblein, a. a. O. 75.

Bei kurzem Kochen eines Harns nimmt nach Lieblein[1]) die Acidität des Harns ab, nicht weil Harnstoff, sondern weil Carbonat durch das zweifach saure Phosphat zerlegt wird. Diese Grösse lässt sich durch die Aciditätsbestimmung nach G. ermitteln.

I. Bestimmung der Salpetersäure.

Nach Röhmann sowie Weyl lässt sich die Salpetersäure im Harn so genau wie im Wasser nach dem Verfahren von Schulze-Tiemann[2]) (Schlösing) bestimmen.

Die Methode beruht darauf, dass die Nitratlösung in einem luftleer gekochten Kolben mit einer Eisenchlorürlösung und Salzsäure vermischt, das gebildete Stickoxyd durch Wasserdampf, den man im Kolben entwickelt, ausgetrieben, in einem Maassrohr über ausgekochter Natronlauge gesammelt und gemessen wird.

Nur ganz frischer Harn enthält noch alle ursprünglich in ihm enthalten gewesene Salpetersäure; beim Stehen des Harns geht sie allmählich in salpetrige Säure über, welche sich nach dieser Methode nicht bestimmen lässt und auch diese verschwindet zuletzt.

Es werden einige Hundert Cubikcentimeter Harn in Arbeit genommen. Vor der Behandlung mit den Reagentien muss er im Zersetzungsgefäss auf ein kleines Volumen eingedampft werden. Da der Harn dabei stark schäumt, verwendet man nach Röhmann mit gleichem Erfolg den alkoholischen Auszug. Der Harn wird dazu nach Weyl und Citron bei alkalischer Reaction in einer Schale zum Syrup eingedunstet, dieser mit $^3/_4$ Vol. Alkohol von 96 % gemischt und 24 Stunden stehen gelassen und das Filtrat im Kolben auf ungefähr 15 cc eingekocht. Man kann auch, nach Weyl und Meyer, den Harn auf 100 cc mit 10—20 cc Bleiessig versetzen, den Niederschlag nach 24 Stunden abfiltriren, ein paar Mal mit kaltem Wasser nachwaschen und Filtrat und Waschwasser unter Zusatz einiger Glaubersalzkrystalle auf dem Wasserbad, bei alkalischer Reaction, auf 50 cc eindampfen. Nach dem Erkalten filtrirt man in den Kolben, wäscht Schale und Filter zwei Mal mit 5 cc Wasser nach und kocht im Kolben weiter ein.

Pfeiffer u. Thurmann haben dagegen gefunden, dass Stickoxyd aus Ammonsalzen sowie aus Harnstoff Stickstoff entwickelt, wodurch das Volumen des Gases, welches allein aus der Salpetersäure stammen soll, nicht unerheblich vermehrt werden kann. Pfeiffer u. Thurmann zerstören die stickstoffhaltige Substanz durch Erhitzen mit Lauge, treiben das gebildete Ammoniak aus und bestimmen die Salpetersäure durch Reduction zu Ammoniak nach Schulze[3]). Während sich aus den Versuchen von Weyl u. Citron die gefundene Salpetersäure zu 94,0—122,6 % der erwarteten berechnete, ergaben die Versuche von Pfeiffer u. Thurmann nach ihrem Verfahren 99,7—101,2 %.

---

[1]) Lieblein, a. a. O. 77.

[2]) E. Röhmann, Ztschr. f. physiol. Ch. **5**. 233. 1881. — Th. Weyl und Citron, Virchow's Archiv **101**. 178. 1885. — Th. Weyl und A. Meyer, Pflüger's Archiv **36**. 456. — Schulze-Tiemann, bei Fresenius, Anleitung zur quant. Analyse, 6. Aufl. **2**. 154.

[3]) Th. Pfeiffer und H. Thurmann, Landw. Versuchsstat. **46**. 6. 1895. — Fr. Schulze, Fresenius, quantit. Analyse, 6. Aufl. **1**. 525.

Es werden 50 cc Harn mit 10 g Natriumhydrat in einem Lintner'schen Druckfläschchen im Trockenkasten 8 Stunden auf 120—130° erhitzt, die Flüssigkeit in einen Destillirkolben gespült und der an der Flaschenwand haftende Beschlag auf ein Filter gespült, gut ausgewaschen und getrocknet. Flüssigkeit und Waschwasser werden so lang gekocht, bis die übergehende Flüssigkeit auf Lackmus nicht mehr alkalisch reagirt. Zu der Flüssigkeit bringt man den Inhalt des Filters, weil dieser immer etwas Salpetersäure enthält. Die Reduction der Salpetersäure wird durch Zink und Eisenfeilspäne oder durch eine Spirale aus blankem Zink- und Eisenblech vorgenommen, wobei der Gehalt der Flüssigkeit an Natriumhydrat durch Zufügen von Lauge soweit erhöht wird, dass auf 1 Theil Wasser 9—10 Theile NaOH kommen. Das gebildete Ammoniak wird abdestillirt, in vorgelegter Säure aufgefangen und die Säure zurücktitrirt.

Die Destillation dauert sehr lang und geht unter starkem Schäumen vor sich. Die Reagentien enthalten stets geringe Mengen Salpetersäure, namentlich das Natriumhydrat und man hat daher nach der Menge der angewandten Lauge eine Correctur vorzunehmen.

K. Bestimmung der salpetrigen Säure.

Die salpetrige Säure lässt sich nicht, wie die Salpetersäure, nach Schulze-Tiemann bestimmen. Röhmann[1]) ermittelte ihre Menge auf colorimetrischem Wege.

Es wurden, wie bei der Bestimmung der salpetrigen Säure in Wasser nach Trommsdorff[2]) 10 cc Harn so weit verdünnt, z. B. auf 500—2000 cc, dass 100 cc nach Zusatz von 3 cc Chlorzinkstärke, 4 cc 0,5 procent. Jodkaliumlösung und 3 cc verdünnter Schwefelsäure nach ungefähr 10—20 Minuten ebenso blau wurden, wie unter denselben Bedingungen 100 cc Wasser, dem 0,02—0,05 mg Natriumnitrit zugesetzt war.

In Harn, welcher weniger als 1 mg in 100 cc enthält, lässt sich wegen der Trübung und Eigenfarbe des Harns die salpetrige Säure meist nur sehr schlecht bestimmen.

§. 62. Bestimmung der Basen.

1. Bestimmung des Kalis und des Natrons.

A. Bestimmung beider Alkalien neben einander.

Von den verschiedenen in Vorschlag gebrachten Methoden geben nach einer sehr gründlichen Untersuchung von Kretschy[3]) nur zwei zuverlässige Resultate. Nach beiden Methoden werden die Alkalien unter möglichster Abscheidung aller anderen Substanzen in Chloride verwandelt, die Gesammtmenge beider gewogen und nun entweder das Kali als Kaliumplatinchlorid bestimmt, worauf sich durch Abziehen des gefundenen Chlorkaliums von der Summe beider Chloride die Menge des Chlornatriums ergiebt, oder es wird der Chlorgehalt der Gesammtmenge der Chloride bestimmt, und aus diesem, sowie aus dem Gewicht der Chloride die Menge beider Alkalien berechnet. Die letztere, die indirekte Methode, dient zugleich als Controle der direkten.

---

1) Röhmann, a. a. O. 114.
2) Trommsdorf, bei Fresenius, a. a. O. 160.
3) M. Kretschy, Ztschr. f. analyt. Ch. 15. 37.

Die einzelnen Verfahrungsweisen unterscheiden sich weiter durch die Art, wie die Alkalichloride von den übrigen Harnbestandtheilen getrennt werden.

I. Nach Lehmann[1]).

Dem Verfahren von Lehmann ist eigenthümlich, dass die Chloride des Harns vor dem Verbrennen der organischen Substanz durch Zusatz von Ammonsulphat in Sulphate übergeführt werden, welche feuerbeständig sind, während sich die Chloride schon in schwacher Glühhitze verflüchtigen.

Man verdunstet 100 cc Harn, oder, wenn die Dichte desselben über 1,020 beträgt, blos 50 cc unter Zusatz von 3—4 g Ammonsulphat (oder mehr) in einer Platinschale zur Trockne und verascht. Brennt sich die Asche nicht ganz weiss, so befeuchtet man sie mit einigen Tropfen Schwefelsäure, raucht die überschüssige Schwefelsäure ab und glüht wieder. Die Asche wird in heisser verdünnter Salzsäure gelöst, filtrirt und das Filter chlorfrei gewaschen.

Die Lösung wird siedend mit Chlorbaryum ausgefällt, und noch heiss mit Ammoniak und kohlensaurem Ammon übersättigt. Das Chlorbaryum fällt die Schwefelsäure und wenigstens einen Theil der Phosphorsäure, das Ammoniak bei Gegenwart von überschüssigem Chlorbaryum den Rest der Phosphorsäure, das kohlensaure Ammon mit dem Ammoniak den Kalk und den grössten Theil der Magnesia sowie den überschüssigen Baryt; die Alkalien sind jetzt als Chloride in Lösung; die in dem Niederschlag eingeschlossenen hat man nun diesem zu entziehen. Dies geht leichter als mit dem voluminösen Niederschlag von Statten, wenn man nach Kretzschmar[2]) die Flüssigkeit mit dem gesammten Niederschlag vorher auf dem Wasserbad zur Trockne verdampft, den Rückstand bei 110° trocknet und nach Zusatz einiger Tropfen Ammoniak mit heissem Wasser behandelt. Der Rückstand wird vollständig ausgewaschen und die Flüssigkeit sammt dem ursprünglichen Filtrat auf ein kleines Volumen eingedampft. Sie darf mit Ammoniak und kohlensaurem Ammon keinen Niederschlag mehr geben; ist dies dennoch der Fall, so fällt man abermals mit Ammoniak und kohlensaurem Ammon und wäscht aus. Diese Behandlung der Flüssigkeit hat man so oft zu wiederholen, bis die Flüssigkeit mit den genannten Reagentien klar bleibt. Dann wird die Flüssigkeit in einem gewogenen Platintiegel unter 100° zur Trockne verdampft, der Rückstand bei aufgelegtem Deckel längere Zeit zum völligen Trocknen und Verjagen des Salmiaks bis nahe zur Rothgluth erhitzt (§ 60. S. 704), im Exsiccator erkalten gelassen und gewogen. Man erfährt so die Summe der beiden Chloride, die ausser einer Spur Chlormagnesium keine fremde Substanz mehr enthalten.

II. Nach Bunge[3]).

Man kann in dreierlei Weise verfahren.

1. Es werden 100—200 cc Harn mit Barytwasser eingedampft, der Rückstand bei beginnender Rothgluth verkohlt, die Kohle mit heissem Wasser ausgezogen und auf dem Filter gewaschen. Das Filtrat wird nochmals eingedampft und mit heissem Wasser aufgenommen, wobei sich stets noch eine bedeutende Menge alkalischer Erden ausscheidet, die Lösung durch ein kleines Filter filtrirt, das Filtrat mit Salzsäure eingedampft und die Chloralkalien schwach geglüht.

---

1) Th. Lehmann, Ztschr. f. physiol. Ch. 8. 508.
2) M. Kretzschmar, Chemiker-Ztg. 11. 418; Ztschr. f. analyt. Ch. 28. 95.
3) G. Bunge, Ztschr. f. Biologie 9. 139. 1873.

2. Der Harn wird mit Barytwasser versetzt, der überschüssige Baryt durch einen Kohlensäurestrom gefällt, der Niederschlag ausgewaschen, Filtrat und Waschwasser eingedampft und der Rückstand verkohlt; dann weiter wie bei 1. Das Verfahren lässt sich schneller ausführen als 1.

3. Ein gemessenes Volumen Harn wird in einem enghalsigen Kolben mit einem gemessenen Volumen Barytwasser vermischt, wobei zur Ausfällung des Harns meist das halbe Volumen des Harns genügt, Kohlensäure eingeleitet und vom Filtrat ein 100 cc Harn entsprechendes Volumen eingedampft, verkohlt u. s. w.

Alle drei Methoden geben unter einander gut stimmende Zahlen.

III. Nach Salkowski u. Munk[1]).

Man fällt Harn mit dem gleichen Volumen einer Mischung von 2 Vol. Baryumhydrat und 1 Vol. Chlorbaryum, verdunstet vom Filtrat 50—100 cc in einer Platinschale und verascht den Rückstand mit kleiner Flamme unter Umrühren mit einem Platinspatel. Die Asche wird mit Wasser und einigen Tropfen Salzsäure erwärmt, mit Ammoniak alkalisch gemacht, mit kohlensaurem Ammon ausgefällt, Filtrat und Waschwasser zur Trockne gebracht und der Rückstand gelinde geglüht. Dann wird der Rückstand in Wasser aufgenommen, nochmals mit Ammoniak und kohlensaurem Ammon behandelt, das Filtrat mit einigen Tropfen Salzsäure in einer kleinen gewogenen Platinschale verdunstet, der Rückstand gelinde geglüht und gewogen.

Die bei diesen Bestimmungen angewandten Reagentien dürfen keine Alkalien enthalten. Das Chlorbaryum und das Baryumhydrat prüft man in der Weise auf solche, dass man eine Lösung desselben heiss mit verdünnter Schwefelsäure ausfällt, die Flüssigkeit möglichst klar vom Niederschlag abgiesst, in einer Platinschale zur Trockne verdunstet, und den Rückstand glüht. Der wässrige Auszug des Rückstands darf mit Chlorbaryum keinen Niederschlag geben; muss der Auszug vorher filtrirt werden, so verwendet man dazu aschefreies Papier. Durch Umkrystallisiren erhält man die Verbindungen rein.

B. Bestimmung des Kalis als Kaliumplatinchlorid.

a. Direkte Bestimmung.

Man löst die Gesammtchloride in wenig Wasser, versetzt die Lösung in einer Porzellanschale mit so viel Platinchlorid, dass beide Chloride von diesem gebunden werden und noch ein kleiner Ueberschuss vorhanden ist, und verdunstet im Wasserbad, bis die Lösung beim Erkalten erstarrt. Der Rückstand wird mit einigen Tropfen Wasser befeuchtet, so dass sich das Natriumplatinchlorid gerade löst, dann mit einer Mischung von 1 Volumen Aether und 4 Volumen absolutem Alkohol übergossen einige Zeit stehen gelassen, die Flüssigkeit durch ein kleines getrocknetes und gewogenes Glaswollfilter (Fig. 44, S. 697) abfiltrirt und das rückständige Kaliumplatinchlorid erst durch Decantiren, dann auf dem Filter mit dem Aether-Alkohol gewaschen. Das Glaswollfilter mit dem Niederschlag wird wieder getrocknet und nach dem Erkalten im Exsiccator gewogen.

---

[1]) Salkowski, Virchow's Archiv **53**. 210. 1871. — I. Munk, daselbst **131**. Suppl. 22.

Statt das Kaliumplatinchlorid mit Aether-Alkohol zu behandeln, kann man den fast trocknen Verdampfungsrückstand einige Stunden mit 80proc. Alkohol übergossen stehen lassen, dann abfiltriren, und erst mit Alkohol von der angegebenen Stärke und dann mit Aether waschen.

Muss man in Ermangelung eines Glaswollfilters den Niederschlag auf einem Papierfilter sammeln, so wird der Niederschlag nach dem vollständigen Auswaschen auf dem Filter mit heissem Wasser gelöst, das Filter vollständig ausgewaschen, die Lösung in einer gewogenen Schale verdunstet, der Rückstand bei 100° getrocknet und nach dem Erkalten im Exsiccator gewogen. Trocknet man den Niederschlag auf dem Filter direkt, so wird das Filter morsch und man findet zu wenig.

Eine Methode zur volumetrischen Bestimmung des Kalis ist von Dubernard[1]) angegeben worden.

Aus dem gefundenen Kaliumplatinchlorid berechnet man die entsprechende Menge Chlorkalium (100 Theile Kaliumplatinchlorid entsprechen 30,69 Theilen Chlorkalium) und zieht dieses von der gesammten Menge der Chloralkalien ab; aus der Differenz ergiebt sich die Quantität des Chlornatriums. Die gefundene Menge Chlorkalium giebt mit 0,6317 multiplicirt die entsprechende Menge K_2O, die des Chlornatriums multiplicirt mit 0,5302 die entsprechende Menge Na_2O.

Ulex[2]) bestimmt das Chlornatrium direkt in folgender Weise. Aus dem alkoholisch-ätherischen Filtrat vom Kaliumplatinchlorid wird das Platin durch Salmiaklösung gefällt, der Niederschlag auf einem Filter mit Aether-Alkohol gewaschen, Filtrat sammt Waschflüssigkeit verdunstet, das im Rückstand befindliche Chlorammon durch vorsichtiges Erhitzen verjagt, der Rückstand mit Wasser ausgezogen und in der Lösung das Chlor titrirt. Die gefundene Chlormenge wird auf Chlornatrium berechnet. Das Verfahren ergiebt etwas zu hohe Werthe.

b. Indirekte Bestimmung.

Dieselbe wird unrichtig, wenn dem Chloridgemenge Chormagnesium beigemengt ist, was die Regel bildet. Nach Kretschy kann man sich desselben entledigen, wenn man die Choride vor der Chlorbestimmung in einem bedeckten Platintiegel eine Stunde oder länger der dunklen Rothgluth aussetzt, wobei das Chlormagnesium in Magnesiumoxyd verwandelt wird. Die Salzmasse löst man in Wasser, bringt sie mit der beigemengten Magnesia in ein Becherglas, erwärmt bis nahe zum Sieden und fällt mit einer klaren, mit Salpetersäure stark angesäuerten Lösung von salpetersaurem Silber aus. Den Niederschlag rührt man tüchtig um und lässt die Flüssigkeit noch so lange in der Wärme stehen, bis sie sich geklärt hat, dann giesst man die Flüssigkeit durch ein aschefreies Filter ab, wäscht den Niederschlag durch Decantiren und bringt ihn zuletzt direct aus dem Glase in einen gewogenen Porzellantiegel. Zu dem Niederschlag spritzt man von dem auf dem Filter befindlichen

---

1) Dubernard, Ztschr. f. analyt. Ch. **25.** 551.
2) G. Ulex, Repert. f. analyt. Ch. **1.** 306; Ztschr. f. analyt. Ch. **22.** 560.

Chlorsilber so viel als möglich. Man trocknet dann Niederschlag und Filter, verbrennt das Filter auf dem Tiegeldeckel, schüttet die Asche in den Tiegel, befeuchtet den Tiegelinhalt mit Königswasser, trocknet abermals und erhitzt endlich das Chlorsilber, bis es gerade geschmolzen ist; es soll perlmutterartig weiss sein. Nachdem der Tiegel im Exsiccator erkaltet ist, wird er gewogen.

100 Theile Chlorsilber entsprechen 24,724 Chlor. Die Menge des Chorkaliums ergiebt sich aus der Formel

$$KCl = 4{,}64495\ S - 7{,}66526\ Cl,$$

worin S die Summe der Chloride und Cl die Menge des gefundenen Chlors bedeutet.

Man kann das Chlor auch durch Titriren bestimmen und wird bei sorgfältiger und richtiger Ausführung des Verfahrens auch richtige Resultate erhalten.

Die indirekte Methode dient zugleich als Controle und Correctur der directen Bestimmung; bei der direkten Bestimmung wird die Natronbestimmung unrichtig ausfallen, wenn den Alkalichloriden Chlormagnesium beigemengt ist. Es empfiehlt sich daher, beide Bestimmungen neben einander auszuführen, was leicht geschehen kann, wenn man eine grössere Menge Harn als die angegebene in Arbeit nimmt, die Lösung der Chloride wägt und von dieser wieder für beide Bestimmungen abgewogene Mengen zu den Analysen verwendet.

c. Bestimmung des Kalis allein.

a. Nach Heintz versetzt man 20—30 cc klaren Harn mit Platinchlorid und dem dreifachen Volumen einer Mischung von 1 Volumen Aether und 4 Volumen absolutem Alkohol, lässt die Mischung 24 Stunden bedeckt stehen, sammelt den Niederschlag auf einem aschefreien Filter, wäscht ihn mit Aether-Alkohol aus und trocknet ihn sammt Filter. Das Filter wird dann zusammengefaltet, in einem bedeckten Porzellantiegel in möglichst geringer Hitze verbrannt, der Glührückstand gewogen, dann nach Munk mit heissem Wasser völlig chlorfrei gewaschen, abermals geglüht und gewogen. Die Gewichtsdifferenz ist gleich dem Gewicht des vorhandenen Chlorkaliums. — Um die Zersetzung der Platinchloridsalze vollständig zu erreichen, fügt man nach Fresenius[1]) dem Niederschlag vor dem Glühen etwas reine Oxalsäure zu, nach dem Glühen aber befeuchtet man den Rückstand mit verdünnter Salzsäure, um etwa aus dem Chlorkalium gebildetes kohlensaures Kali wieder in Chlorkalium zu verwandeln, trocknet und glüht.

b. Versuche Salkowski's, das Kali des zuvor concentrirten Harns mit Weinsäure zu bestimmen, ergaben keine günstigen Resultate; sie fielen wegen Verunreinigung des sauren weinsauren Kalis stets zu hoch aus. Robin[2]) machte die gleiche Erfahrung. Genauer als im Harn direkt lässt sich das Kali durch Weinsäure in der Harnasche bestimmen, wenn auch nicht so genau als mit Platinchlorid.

---

1) Heintz, Poggendorff's Ann. 66. 133; Würzburger med. Ztschr. 2. 90 u. 230. — I. Munk, Virchow's Archiv 69. 364. — Fresenius, Anleitung zur quantitativen Analyse § 127. 6.

2) E. Salkowski, Pflüger's Arch. 6. 209. — A. Robin, Gaz. méd. de Paris 1889. 265.

2. Bestimmung des Ammoniaks.

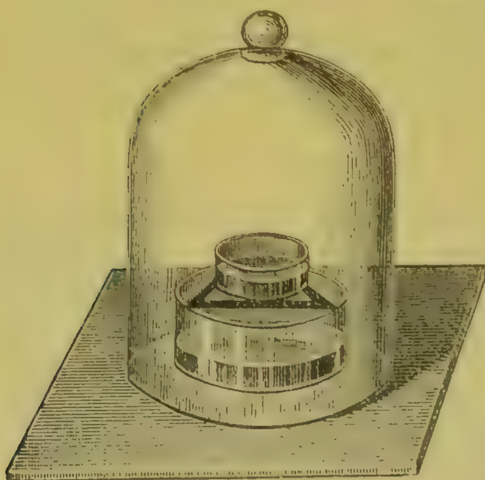
I. Nach Schlösing.

A. Princip. Das Verfahren beruht darauf, dass aus einer Flüssigkeit verdunstendes Ammoniak (oder Ammoncarbonat) in einem geschlossenen Raume von Schwefelsäure ganz aufgenommen werden kann. Durch Zurücktitriren der noch freien Schwefelsäure erfährt man die Menge des absorbirten Ammoniaks. Aus Salzen wird das Ammoniak durch eine schwache Basis, welche andere stickstoffhaltige Substanzen nicht unter Entwicklung von Ammoniak zersetzt (Kalkmilch), in Freiheit gesetzt. Enthält der Harn Carbaminsäure, so gesellt sich das Ammoniak derselben dem aus den Ammonsalzen hinzu (S. 267). Die Anwendbarkeit des Verfahrens auf den Harn hat Neubauer[1]) bewiesen.

Statt der Kalkmilch lässt sich nach Munk[2]) auch eine 8—10 proc. Sodalösung anwenden; Natronlauge aber entwickelt auch aus anderen stickstoffhaltigen Verbindungen als den Ammonsalzen Ammoniak.

Phosphorsaure Ammon-Magnesia verhält sich nach Berthelot und André[3]) ganz anders als Harn. Calciumhydrat treibt aus ihm bei nicht sehr langem Kochen nur einen Theil des Ammoniaks aus, in der Kälte dauert die Reaction unendlich lang; bei Einwirkung von Natronlauge in Gegenwart von Magnesiumsalzen lässt sich in der Kälte und mit verdünnten Lösungen die Zersetzung fast nicht zu Ende führen.

Fig. 51.



B. Erforderliche Lösungen.

1. Viertel-Normalschwefelsäure;
2. Zehntel-Normalnatronlauge.

C. Ausführung.

Man stellt auf die Platte eines Exsiccators von der Form, wie sie in Fig. 51 dargestellt ist, eine flache Schale mit steilen Wänden (abgesprengtes Becherglas), welches 25 cc filtrirten Harn enthält, legt darauf ein aus einem Glasstab gebogenes Dreieck und stellt auf dieses eine zweite kleinere Schale, in welche man aus einer Burette 20 cc $^1/_4$ Normalschwefelsäure gefüllt hat, bestreicht den Rand der Glasglocke gut mit Talg, fügt dem Harn mindestens 10 cc Kalkmilch hinzu und setzt sogleich die Glasglocke dicht auf. Nach 3—4 Tagen ist aus dem Harn meist alles Ammoniak ausgetrieben, und von der Schwefel-

1) Neubauer, Journ. f. prakt. Ch. **64**. 177.
2) I. Munk, Virchow's Archiv **69**. 365. 1877.
3) Berthelot u. André, Bull. de la soc. chim. [2] **47**. 485. 1887.

säure absorbirt worden. Wenn die Flüssigkeit, welche die Glocke inwendig beschlagen hat, alkalisch reagirt, so spült man sie in die Schwefelsäure. Man färbt dann die Schwefelsäure mit Methylorange und und titrirt mit der Zehntel-Natronlauge bis zum Uebergang des Roth in Gelb zurück, was sich sicher erkennen lässt, wenn man die Färbung mit der vergleicht, welche mit Methylorange gefärbtes Wasser besitzt. So viel $^1/_{10}$-Normalnatronlauge man zur Neutralisation der 20 cc $^1/_4$-Normalschwefelsäure weniger verbraucht hat als 50, so viel mal 1,7 mg H_3N hat man gefunden.

Statt der beschriebenen, von Neubauer herrührenden Schale bedient man sich besser eines Schwefelsäurenapfes aus einem Exsiccator. Das Glasdreieck ist dann überflüssig.

Nach Neubauer soll man Normalschwefelsäure, und zwar 10 cc, anwenden und mit $^1/_4$ n Lauge zurücktitriren; das ist viel zu viel Säure. Ich empfehle statt dessen 20 cc $^1/_4$ n Säure, wobei die Säure immer noch in grossem Ueberschuss vorhanden ist, und für das Zurücktitriren $^1/_{10}$ n Lauge. Die Bestimmung wird so genauer.

Bei eiweisshaltigen und concentrirten Harnen braucht es nach Hallervorden[1]) 5—8 Tage, ehe alles Ammoniak aus dem Harn entwichen ist; um sicher zu sein, dass man den Versuch nicht zu früh abbricht, soll man die Schwefelsäure gegen andere auswechseln. Der Grund, weshalb die Ammoniakabsorption so viel Zeit in Anspruch nimmt, ist wohl zum Theil darin zu suchen, dass sich die Glocke innen mit Wasser beschlägt, welches Ammoniak absorbirt. Das Evacuiren der Glocke vor dem Kalkzusatz zum Harn (Bohland[2]) beseitigt diesen Uebelstand nicht ganz, weil sich nach einiger Zeit doch Wasser auf der Glocke niederschlägt.

Die Verwendung eiweisshaltigen Harns halten Salkowski sowie Salomon[3]) wegen der leichten Zersetzbarkeit des Eiweisses für unzulässig. Das Eiweiss kann nach dem Verfahren von Salkowski (S. 442) abgeschieden werden.

Der Harn muss frisch sein. Um der ammoniakalischen Zersetzung vorzubeugen, beschickt man das Sammelgefäss nach Hallervorden mit so viel Phenollösung, dass der Harn zuletzt 2—3% Phenol enthält. In frischem Harn verhindert nach Salkowski sowie nach Kiesewetter Kalkmilch die ammoniakalische Gährung, doch giebt phenolhaltiger Harn ungefähr 10% weniger Ammoniak als blos mit Kalkmilch versetzter. — Nach Schwarz[4]) soll der Harn stets mit Chloroform sterilisirt werden; unterlässt man es, so findet man zu viel Ammoniak.

Das Verfahren lässt sich nach Munk[5]) bei genügend langer Zeit für die Ammoniakabsorption auch auf Hundeharn anwenden.

II. Durch Abdestilliren des Ammoniaks.

Nach Wurster[6]) lässt sich das Verfahren von Schlösing erheblich abkürzen, wenn man das Ammoniak im Vacuum abdestillirt. Man verfährt in folgender Weise.

---

[1]) E. Hallervorden, Archiv f. exper. Pathol. **12**. 237. 1880.

[2]) Bohland, Pflüger's Archiv **43**. 32.

[3]) Salkowski, Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1880. 690. — W. Salomon, Virchow's Archiv **97**. 150. 1884.

[4]) Salkowski, Virchow's Archiv **58**. 486. — Kiesewetter, bei Hallervorden, a. a. O. — E. Schwarz, Wiener med. Wochenschr. **3**. 1893.

[5]) I. Munk, a. a. O.

[6]) C. Wurster, Centralbl. f. Physiol. 1887. 485.

1. Der Destillationsapparat besteht aus zwei dickwandigen, durch ein Glasrohr mit einander verbundenen Flaschen, von denen die eine zur Aufnahme des Harns bestimmte, blos mit dem Boden auf 50⁰ erwärmtes Wasser berührt, die zweite, in welcher sich der Schaum sammeln soll, ganz in das Wasser eingetaucht ist. Die zweite Flasche ist mit einem dreifach durchbohrten Stöpsel versehen; die eine Bohrung nimmt das Glasrohr der ersten Flasche auf, die zweite führt zum Absorptionsgefäss und die dritte, während der Destillation verschlossen gehaltene Oeffnung dient zum Einlassen von Luft nach Beendigung der Destillation. Der Apparat wird mit einem Tuch bedeckt, damit man, falls der Luftdruck die evacuirten Flaschen zusammendrückt, vor der umher geschleuderten Flüssigkeit geschützt ist. Als Absorptionsgefäss dient ein starkwandiger, in kaltem Wasser stehender Kugelapparat mit 40—50 cm langen Schenkeln; er wird mit einem abgemessenen Volumen titrirter Schwefelsäure (1. B.) beschickt.

In die erste Flasche misst man 20 cc Harn, versetzt ihn mit 5—10 cc Barytwasser (S. 45), oder mit fester Magnesia, oder mit Kalkmilch, drückt die für die Flaschen bestimmten Stöpsel in dieselben und evacuirt mit der Wasserstrahlpumpe, worauf der Harn in lebhaftes Sieden geräth. Wenn zwei Drittel der Flüssigkeit überdestillirt sind, ist auch alles Ammoniak ausgetrieben, was in $^1/_4$ Stunde erreicht sein kann. Man lässt Luft in den Apparat, spült die Schwefelsäure in ein Becherglas und titrirt mit Viertel-Normallauge zurück.

Zur Verhütung des Schäumens bringt Schwarz[1]) zu dem Harn einige Gramm Magnesia oder Meerschaumpulver, so dass ein dicker Brei entsteht und macht mit einigen Tropfen (sicher zu wenig) Kalkmilch alkalisch. Er erwärmt das Wasserbad auf 30—50⁰ und lässt das Evacuiren bis eine halbe Stunde dauern.

2. Nencki u. Zaleski[2]) haben dem Apparat eine andere Form ertheilt.

Zur Aufnahme des Harns dient ein starkwandiges, sich von unten nach oben erweiterndes Glasgefäss, wegen des Schäumens von 1,5—2 Ltr. Inhalt (Recipient). Der Kautschukpfropf, mit welchem das Gefäss verschlossen ist, trägt ein Thermometer, welches bis in den Harn reicht, einen Tropftrichter mit Glashahn, und das Gasableitungsrohr, an welchem in dem aufsteigenden Theil 3 Kugeln angeblasen sind. Die vorgelegte Schwefelsäure befindet sich in einem langen, am geschlossenen Ende zu 3 Kugeln aufgeblasenen weiten starkwandigen Glasrohr. Es wird gleichfalls durch einen Kautschukpfropfen verschlossen. Das Rohr, welches das Ammoniak überführen soll, reicht durch den Pfropfen bis auf den Boden des Säuregefässes und ist mittelst eines Glashahns mit dem Gasableitungsrohr verbunden. Aus dem Säuregefäss führt ein Rohr auf den Boden einer kleinen Woulf'schen Flasche zur Aufnahme etwa übergerissener Säure. An diese Woulf'sche Flasche schliesst sich eine zweite an, falls aus der Wasserstrahlpumpe Wasser in den Apparat fliessen sollte. — Der Apparat ist im Archiv f. exper. Pathol., a. a. O., sowie im Chem. Centralbl. 1896. **1**. 510 abgebildet.

Der Apparat wird mit Harn und mit Schwefelsäure beschickt, wie bei I., der Recipient bis zum Hals schwebend in ein Wasserbad getaucht. Es wird zuerst das Säuregefäss evacuirt, während der Hahn zwischen diesem und dem Recipienten geschlossen ist, dann wird dieser Hahn vorsichtig geöffnet. Gehen keine Gasblasen mehr durch die Schwefelsäure, so wird der Verbindungshahn geschlossen und durch den Tropftrichter langsam 50—100 cc Kalkmilch von 1,005—1,007 Dichte zugelassen (100 cc Kalkmilch von 1,007 Dichte enthalten 0,75 g CaO = 0,455 H_3N). Man schliesst den Hahn des Tropftrichters und öffnet den Verbindungshahn vorsichtig, so dass das Gas nur langsam durch die Schwefelsäure streicht. Entweicht kein Gas mehr, so heizt man das Wasserbad an; bei 30—32⁰ findet lebhaftes Sieden und starke Gasentwicklung statt. Das Sieden wird 3 Stunden unterhalten, wobei man

1) E. Schwarz, Wiener med. Wochenschr. 3. 1893.
2) M. Nencki u. J. Zaleski, Archiv f. exper. Pathol. **36**. 385. 1895.

die Temperatur allmählich auf 35° steigen lässt, aber nicht höher. Man sperrt dann zuerst den Hahn der Wasserluftpumpe ab, schliesst den Verbindungshahn und füllt durch den Tropftrichter den Recipienten langsam mit Luft; darauf öffnet man vorsichtig den Verbindungshahn. Die Säure wird aus dem Säurebehälter, wenn nöthig aus der ersten Woulf'schen Flasche, ferner aus dem Gasleitungsrohre sorgfältig ausgespült.

In Parallelversuchen stimmten die Resultate bis auf 3—5 % des Ammoniaks, sowie mit Bestimmungen nach Bohland (I) überein. Harnstoff und Kreatin werden unter den angegebenen Bedingungen nicht zersetzt. Der Harn darf Eiweiss enthalten.

III. Bestimmung mit Platinchlorid.

A. Nach Heintz. Man verfährt nach § 62. 1. c. S. 741. Aus der gefundenen Menge Chlorkalium lässt sich berechnen, wie viel von dem gesammten Platin dem Kaliumplatinchlorid angehörte. Man zieht diese Menge Platin von der gesammten Platinmenge ab und erfährt so das Gewicht desjenigen Platins, welches im Ammoniumplatinchlorid enthalten war. Aus dieser zweiten Platinmenge lässt sich aber wieder die Menge des zugehörigen Ammoniaks berechnen. 100 Theilen Chlorkalium entsprechen 130,71 Theile Platin, 100 Theilen Platin 17,445 Theile H_3N.

B. Nach Schmiedeberg[1]). Es werden 20 cc des filtrirten Harns in einer konischen Kochflasche mit Platinchlorid und dem 5—6-fachen Volumen eines Gemisches von 2 Volumen absolutem Alkohol und 1 Volumen Aether versetzt und der Niederschlag, nach 24 stündigem Stehen an einem kühlen Orte, auf dem Filter gesammelt und mit Aether-Alkohol gut ausgewaschen. Nach dem Verdunsten des Alkohols wird der Niederschlag sammt dem Filter in der inzwischen getrockneten Flasche mit Wasser übergossen, dem einige Procent Salzsäure zugesetzt sind, und mit metallischem Zink in mässiger Wärme reducirt. Nach kurzer Zeit ist der ganze Platinniederschlag zersetzt und man erhält beim Filtriren eine farblose Flüssigkeit, welche unter Zusatz von gebrannter Magnesia destillirt wird, wobei man die Destillation so lange fortsetzt, bis das Destillat keine Spur alkalischer Reaction mehr zeigt. Das Destillat fängt man in 10 cc Normalschwefelsäure auf, concentrirt es im Wasserbad und titrirt die Schwefelsäure mit Viertel-Normallauge zurück (vgl. I).

Der Platinniederschlag enthält nicht blos Ammoniak, sondern auch andere stickstoffhaltige Substanzen, die nach der Austreibung des Ammoniaks durch Magnesia bei der Destillation mit Kalilauge noch Ammoniak entwickeln.

Das Verfahren von Heintz giebt nach I. Munk sowie nach Feder fast genau dieselben Resultate, wie das Verfahren von Schlösing, ebenso nach Hallervorden[2]) das Verfahren von Schmiedeberg.

[1]) Schmiedeberg, Archiv f. exper. Pathol. **7**. 166.

[2]) Feder, Ztschr. f. Biol. **14**. 166. — E. Hallervorden, Archiv f. exper. Pathol. **10**. 132.

IV. Nach Latschenberger.

Latschenberger[1]) hat ein Verfahren angegeben, nach welchem das Ammoniak des Harns durch Nessler'sches Reagens auf colorimetrischem Wege bestimmt wird.

3. Bestimmung des Kalks und der Magnesia.

I. Bestimmung des Kalks.

1. Durch Wägen.

A. Princip. Diese Methode der Kalkbestimmung beruht darauf, dass aus der essigsauren Auflösung des phosphorsauren Kalks durch oxalsaures Ammon der Kalk als oxalsauer gefällt wird, und dass oxalsaurer Kalk durch Glühen in kohlensauren Kalk und zuletzt in Aetzkalk übergeführt wird. Da der oxalsaure Kalk in dem gebildeten zweifach sauren Phosphat, sowie in der zugesetzten Essigsäure nicht ganz unlöslich ist, so findet man etwas zu wenig Kalk; doch beträgt der Ausfall bei richtiger Ausführung der Analyse nach Fresenius nur einige Zehntel Procent.

B. Ausführung.

Man versetzt 200 cc oder mehr des zuvor filtrirten Harns mit Ammoniak bis zum Auftreten eines deutlichen Niederschlags, löst den Niederschlag wieder in möglichst wenig Salzsäure, fügt oxalsaures Ammon im Ueberschuss und endlich essigsaures Natron hinzu und lässt das Glas bedeckt ungefähr 12 Stunden auf dem Wasserbad stehen. Erhitzt man die Flüssigkeit vor dem Zusatz von oxalsaurem Ammon oder nach Zusatz von zu wenig desselben, so kann einfach saurer phosphorsaurer Kalk ausfallen (S. 24), der sich nur durch sehr viel Säure wieder in Lösung bringen lässt, was man zu vermeiden hat. Man giesst die Flüssigkeit durch ein kleines aschefreies Filter ab, wäscht den Niederschlag mit heissem Wasser durch Decantiren chlorfrei und bringt ihn zuletzt vollständig auf das Filter. (Filtrat und Waschwasser dienen zur Bestimmung der Magnesia.) Um das Verpilzen der Flüssigkeit zu verhindern, versetzt man sie mit Thymol oder Phenol. Das getrocknete Filter wird sammt Niederschlag in einem Platintiegel über einer einfachen Flamme zunächst weiss gebrannt, der Tiegel darauf ohne Deckel über dem Gebläse 10 Minuten zur Weissgluth erhitzt und nach dem Erkalten (bedeckt) gewogen. Man wiederholt das Glühen über dem Gebläse, bis der Tiegel keine Gewichtsabnahme mehr zeigt. Der Inhalt des Tiegels besteht jetzt aus CaO. 1 Thl CaO entspricht 1,845 Thln $Ca_3(PO_4)_2$.

---

[1]) J. Latschenberger, Monatshefte f. Ch. 5. 143. 1885.

Das Calciumoxalat geht leicht durch das Filter. Um dies zu verhindern, empfiehlt Warren[1]) den Zusatz einiger Tropfen ätherischer Pyroxylinlösung; das sich ausscheidende Pyroxylin hält den Niederschlag beisammen. Bei einer genauen Befolgung der oben gegebenen Vorschrift ist dieser Behelf überflüssig.

In Ermangelung eines Gebläses kann man die Bestimmung auch so ausführen, dass man den weissgebrannten Tiegelinhalt mit einer concentrirten Lösung von schwefelsaurem Ammon benetzt, trocknet und glüht und das Verfahren wiederholt, bis das Gewicht des Tiegels nicht mehr zunimmt. Der oxalsaure Kalk wird dabei in schwefelsauren verwandelt; 100 Theile desselben enthalten 41,176 Theile CaO.

2. Durch Titriren.

a. Acidimetrisch.

Die Bestimmung durch Titriren kann als Ersatz für die Wägungsbestimmung in dem Fall dienen, als keine Wage und kein Gebläse zur Verfügung steht. In einer grösseren Reihe von Parallelbestimmungen, welche Dr. Basch in meinem Laboratorium ausgeführt hat, wurde durch Titriren etwas weniger (im Mittel 1,4 $^0/_0$) Kalk gefunden als durch Wägen.

A. Erforderliche Lösungen.

1. Zehntel-Normalsalzsäure.

2. Zehntel-Normalnatronlauge.

B. Ausführung.

Der Kalk wird gefällt und ausgewaschen, wie bei 1., und Filter sammt Inhalt im Platintiegel weiss gebrannt. Man spült die Asche ohne Verlust in ein Kölbchen, setzt, je nach der Menge der Asche, 10—20 cc der Säure hinzu und erwärmt sehr gelinde; erfolgt die Lösung nicht schnell, so lässt man das Kölbchen verschlossen stehen, bis aller Kalk in Lösung gegangen ist. Darauf wird die Säure unter Zusatz von Methylorange oder Phenolphtalein zurücktitrirt, bis das Roth des Methylorange in Gelb umschlägt oder die farblose mit Phenolphtalein versetzte Lösung die erste Spur Roth zeigt. So viel Cubicentimeter Lauge man bis dahin weniger braucht, als man Salzsäure zum Lösen verwandte, so viel Cubikcentimeter Salzsäure ist von dem vorhandenen Kalk gebunden worden. Jeder Cubikcentimeter der gebundenen $^1/_{10}$ normalen Salzsäure entspricht 2,8 mg CaO oder 5,136 mg $Ca_3(PO_4)_2$.

b. Mit Permanganat nach Hempel[2]).

A. Princip. Oxalsäure wird, auch in der sauren Lösung eines Oxalats, durch Permanganat zu Kohlensäure oxydirt. Aus der verbrauchten Menge Permanganat wird die Menge des Oxalats berechnet.

---

[1]) H. N. Warren, Chem. News **61**. 63; Ztschr. f. anal. Ch. **30**. 35.

[2]) W. Hempel, Jahresber. f. Chemie 1853. 627.

Zur Lösung des Oxalats (der Oxalsäure) ist Salzsäure ungeeignet, weil diese auch in der Kälte, durch das Permanganat unter Entwicklung von Chlor oxydirt wird; man verwendet Schwefelsäure.

B. Erfordernisse.

1. Eine $^1/_{20}$ normale Oxalsäure- (Hempel) oder Tetraoxalatlösung (Kraut[1]) mit 3,150 g aschefreier krystallisirter Oxalsäure (S. 451) oder 3,176 g Tetraoxalat im Liter.

2. Eine nach C auf eine dieser Lösungen gestellte Permanganatlösung. 1 cc derselben zeigt 2 mg Ca oder 2,8 mg CaO an.

C. Ausführung. Der nach 3. I. 1. gefällte und ausgewaschene oxalsaure Kalk wird nach Krüger[2]) auf dem Filter in heisser auf das 20fache ihres Volumens verdünnter Schwefelsäure gelöst, das Filter noch 5—6 Mal mit der Schwefelsäure nachgewaschen und die gesammte Flüssigkeit, die nicht mehr als 25—30 cc zu betragen braucht, noch heiss mit soviel Permanganatlösung versetzt, bis die Flüssigkeit die erste Spur von Rothfärbung zeigt. Titrirt man über, so setzt man eine gemessene Menge (1 cc) der Oxalsäure oder Oxalatlösung zu und vollendet die Titration mit der Permanganatlösung. Der zur Ertheilung der Rothfärbung erforderliche Tropfen Permanganat wird nicht mitgerechnet. Aus der verbrauchten Menge Permanganat berechnet man die Menge des gefundenen Kalkes.

Mit dem Verfahren von Hempel war ursprünglich beabsichtigt, den Kalk durch überschüssige Oxalsäure zu fällen und den Ueberschuss zu titriren. Auf den Harn lässt sich diese Art der Bestimmung nicht anwenden.

II. Bestimmung der Magnesia.

1. Durch Wägen.

a. Die vom oxalsauren Kalk abfiltrirte Flüssigkeit (I. 1. B.) versetzt man mit $^1/_3$ Vol. Ammoniak von 10 % (0,96 Dichte), wodurch alle Magnesia als phosphorsaure Ammonmagnesia gefällt wird. Nachdem sich dieselbe nach einigen Stunden vollkommen abgesetzt hat, sammelt man den Niederschlag auf einem Filter von bekanntem Aschegehalt, wäscht mit Wasser, dem man wieder $^1/_3$ seines Volumens Ammoniak zugesetzt hat, völlig aus und trocknet. Ist dieses geschehen, so trennt man den Niederschlag möglichst vollständig vom Filter, schüttet ihn in einen gewogenen Platintiegel, verbrennt das Filter in der Platinspirale (Fresenius, Anleitung zur quantitativen Analyse § 53.), bringt die Filterasche zum Niederschlag und glüht. Da dem Niederschlag noch organische Substanz, namentlich Harnsäure, beigemengt ist, so brennt er sich nur schwer weiss; man erreicht dies aber leicht, wenn man ein

---

[1]) Kraut, Henneberg's Journ. f. Landwirthschaft 1856. 112; Chem. Centralbl. 1856. 316.

[2]) M. Krüger, Ztschr. f. physiol. Ch. 16. 445. 1892.

kleines Stückchen salpetersaures Ammon in den kalten Tiegel legt, mit einigen Tropfen Wasser befeuchtet, anfangs ganz gelinde und zuletzt zum heftigen Glühen erhitzt. Die phosphorsaure Ammon-Magnesia MgH_4NPO_4 ist dabei in pyrophosphorsaure Magnesia $Mg_2P_2O_7$ übergegangen; 100 Theile dieser entsprechen 36,208 MgO.

b. Schneller bestimmt man die alkalischen Erden in zwei verschiedenen Harnmengen. Aus der einen Portion fällt man den Kalk nach I. 1. und berechnet ihn als phosphorsauren Kalk. In einer zweiten Portion von 200 cc fällt man die gesammten Erdphosphate mit Ammoniak, und behandelt den Niederschlag wie bei a. Zieht man von dem Gewicht des zweiten Niederschlags den des ersten ab, so erhält man das Gewicht der pyrophosphorsauren Magnesia.

2. Durch Titriren.

a. Nach Neubauer. Aus 200 cc Harn fällt man, nachdem der Kalk durch oxalsaures Ammon entfernt ist, die Magnesia mit Ammoniak nach 1. a., sammelt nach einigen Stunden die phosphorsaure Ammon-Magnesia auf einem kleinen Filter und wäscht mit ammoniakhaltigem Wasser aus. Das Filter stösst man darauf mit dem Glasstab durch, spritzt den Niederschlag vollständig in ein Becherglas und löst ihn in Essigsäure auf. Bleibt hierbei etwas Harnsäure zurück, so filtrirt man die Lösung am Besten davon ab. In der erhaltenen Flüssigkeit bestimmt man darauf die Phosphorsäure nach § 61. F. S. 731. Die gefundene Menge Phosphorsäure (P_2O_5) giebt mit 0,5676 multiplicirt, die entsprechende Menge Magnesia (MgO), dagegen mit 1,5676 multiplicirt, die entsprechende Quantität pyrophosphorsaurer Magnesia.

b. Nach Stolba Versetzt man in Wasser suspendirte phosphorsaure Ammon-Magnesia bei Gegenwart von Cochenilletinctur mit einer verdünnten Säure, bis die Flüssigkeit ihre violette Farbe in Gelbroth verwandelt, so sind auf 1 Mol. des Phosphats 2 Mol. Säure verbraucht worden (vergl. S. 30). Diese Titrirung ist auch bei Gegenwart von oxalsaurem Kalk, und wie Kraus[1]) ermittelt hat, auch mit Harn ausführbar. Das Verfahren beim Harn ist folgendes.

Aus mindestens 300 cc Harn fällt man den Kalk unter Zusatz von Chlorammon mit oxalsaurem Ammon, setzt sofort reichlich Ammoniak zu, filtrirt die Flüssigkeit nach 12 stündigem Stehen durch ein aschefreies Filter ab und wäscht den Niederschlag mit ammonhaltigem Wasser wie bei II. 1. a. chlorfrei. Es ist dabei nicht nöthig, dass der Niederschlag vollständig auf das Filter gebracht werde. Darauf wird der Niederschlag noch so lange mit Weingeist gewaschen, bis durch das Filtrat Cochenilletinctur in ihrer Farbe nicht mehr verändert wird. Man bringt dann das Filter mit dem Niederschlag in das Becherglas zurück, fügt Cochenilletinctur und aus einer Burette so viel Zehntel-Normalsalzsäure oder Zehntel-Normalschwefel-

[1]) Stolba, Ztschr. f. analyt. Ch. 16. 100. — F. Kraus, Ztschr. f. physiol. Ch. 5. 422.

säure zu, bis die Flüssigkeit auch nach längerem Erwärmen des bedeckten Becherglases im Wasserbad gelb bleibt, und titrirt dann mit Zehntel-Normalnatronlauge bis zum Eintreten des Violett zurück. Von der Anzahl Cubikcentimeter Säure, die man zugesetzt hatte, zieht man die Anzahl Cubikcentimeter Lauge ab, welche beim Rücktitriren verbraucht wurde; jeder Cubikcentimeter des Restes zeigt 2,015 mg MgO an.

Neben dem oxalsauren Kalk und der phosphorsauren Ammon-Magnesia fällt auch reichlich harnsaures Ammon, durch welches die Titrirung jedoch nicht beeinträchtigt wird.

III. Indirekte Bestimmung des Kalks und der Magnesia.

Um diese Bestimmung auszuführen, fällt man zweimal in je 200 cc des filtrirten Harns die Erdphosphate mit Ammoniak, filtrirt nach einigen Stunden ab und bestimmt die eine Menge gewichtsanalytisch nach II. 1. a., die zweite Menge spritzt man in ein Becherglas, löst in Essigsäure und titrirt darin die Phosphorsäure nach § 61. F. S. 731. Die in dem geglühten Gemenge enthalten gewesene pyrophosphorsaure Magnesia ergiebt sich aus der Formel 5,5448 P—2,5374 S oder 2,5374 (2,1852 P — S), worin P = der gefundenen P_2O_5, S = der Summe der Erdphosphate. Zieht man die Menge der pyrophosphorsauren Magnesia von der Menge des Glührückstandes ab, so erhält man die Menge des normalen phosphorsauren Kalks. 0,542 $Ca_3(PO_4)_2$ = CaO, 0,362 $Mg_2P_2O_7$ = MgO.

4. Bestimmung des Eisens.

I. Durch Titriren mit Permanganat.

A. Princip. Setzt man zu einer sauren Lösung eines Eisenoxydulsalzes eine Lösung von übermangansaurem Kali, so wird die Permanganatlösung so lange entfärbt, als noch Eisenoxydulsalz vorhanden ist; nach Vollendung der Oxydation färbt sich die Flüssigkeit roth. Kennt man den Wirkungswerth der Permanganatlösung, so lässt sich aus dem verbrauchten Volumen derselben die Menge des vorhandenen Eisens berechnen.

Es muss also das im Harn enthaltene Eisen in Eisenoxydul übergeführt werden. Bei der Oxydation der organischen Substanz bildet sich Eisenoxyd und dieses ist daher zu Oxydul zu reduciren. Hamburger hat sich dazu in einwurfsfreier Weise der schwefligen Säure bedient, wozu allerdings der unten beschriebene Apparat (Fig. 52) erforderlich ist. Andere reduciren mit Zink. Dieses enthält aber Eisen (und Kohle); das gewöhnliche Zink entwickelt ausserdem Schwefelwasserstoff, arsenhaltiges auch Arsenwasserstoff, welche beide vom Permanganat oxydirt werden. Den Fehler, welcher durch den Eisengehalt des Zinkes verursacht wird, hat man dadurch auszugleichen gesucht,

dass man ihn bestimmte und die mit dem Zink in die Lösung gebrachte Eisenmenge von der gefundenen abzog. Aber ein und dasselbe Zink enthält nicht in allen seinen Theilen gleich viel Eisen. Die Bestimmung wird also bei Verwendung von Zink als Reductionsmittel ungenau.

Auch die Salzsäure wird durch das Permanganat oxydirt und deshalb ist das Eisenoxydul in schwefelsaurer Lösung zu titriren.

Nach Zimmermann[1]) lässt sich das Eisenoxydul bei Gegenwart von Manganoxydulsalz auch in salzsaurer Lösung oxydiren. Das frei werdende Chlor wird vom Manganoxydulsalz gebunden und die Resultate fallen so genau aus, wie bei der Titrirung des Eisenoxyduls in schwefelsaurer Lösung. Von einer Lösung von 200 g krystallisirtem Manganosulphat im Liter genügen 20 cc, um 50 cc Salzsäure von 1,12 Dichte unschädlich zu machen. Das Mangansalz muss aber eisenfrei sein.

Die Bestimmung des Eisens in der Harnasche mit Permanganat hat zuerst Böcker[2]) ausgeführt. Das Eisen befand sich in salzsaurer Lösung und die Reduction geschah mit Zink, dessen Eisengehalt gesondert ermittelt wurde.

1. Nach Hamburger[3]).

B. Bereitung der Lösungen.

1. Chamäleonlösung. Aus einer grösseren Menge übermangansaurem Kali liest man staubfreie Krystalle aus und löst etwa 0,5 g in 2 l Wasser. Die Lösung ist nur dann brauchbar, wenn sie violett ist (einen deutlichen Stich in Blau besitzt).

2. Lösung von chemisch reinem schwefelsauren Eisenoxydul. Man putzt ein Stück weichen rostfreien Eisendraht (Blumendraht) mit Schmirgelpapier blank, wägt von demselben 0,25—0,5 g ab, bringt ihn in eine geaichte Kochflasche von 250 oder 300 cc Inhalt, welche oben am Halse eine Marke besitzt, fügt ungefähr 100 cc eines Gemisches von 1 Volumen der eisenfreien Schwefelsäure (5) und 5 Volumen Wasser zu und erwärmt schwach, bis alles Eisen gelöst ist. Während des Lösens und bis zum Erkalten der Lösung leitet man in die Flasche, mittelst eines doppelt durchbohrten Korkes, mit Kupfervitriol- und Sodalösung gewaschene Kohlensäure in ziemlich lebhaftem Strome, indem man das Ableitungsrohr in Wasser getaucht hält. Vorher hat man 0,5 *l* destillirtes Wasser in einer Kochflasche in lebhaftem Sieden erhalten, bis sich längere Zeit nur grosse Blasen entwickelt haben; die Kochflasche wird dann mit einem Kautschukpfropfen verschlossen und erkalten gelassen. Mit diesem Wasser füllt man die Eisenlösung genau bis zur Marke auf und hält die Flasche mit einem Kautschukpfropfen gut verschlossen. Die Lösung dient zur Titerstellung der Chamäleonlösung. Fürchtet man, dass sich das Oxydulsalz theilweise oxydirt habe, so reducirt man die Lösung vor einer erneuten Titerstellung nach C. Von dem Gewicht des gelösten Eisens zieht man nach Fresenius[4]) 0,4 % für Kohlenstoff u. s. w. ab und berechnet den Gehalt der Lösung an Eisen.

3. Titerstellung der Chamäleonlösung. Die Chamäleonlösung wird in eine Glashahnburette (Fig. 27 u. 28, S. 645) gefüllt, von der klaren Eisenvitriollösung aus einer Burette 20 cc in einen Kolben von ungefähr 250 cc Inhalt gemessen, der Kolben mit ausgekochtem Wasser bis zur Hälfte gefüllt, auf eine weisse Unterlage gestellt und aus der Glashahnburette unter Umschwenken so lange Chamäleonlösung zugesetzt, bis die Flüssigkeit dauernd eine schwach rosenrothe

---

1) Cl. Zimmermann, Berichte d. chem. Gesellsch. **14**. 779.
2) Böcker, Prager Vierteljahrsschr. **3**. 131. 1856.
3) E. W. Hamburger, Ztschr. f. physiol. Ch. **2**. 195. 1878; **4**. 249. 1880.
4) Fresenius, Anleitung zur quantitativen Analyse, 6. Aufl. **1**. 276.

Färbung annimmt. Von dem verbrauchten Volumen der Chamäleonlösung zieht man so viel ab, als erforderlich ist, um ein Volumen Wasser von der Grösse des Volumens der titrirten Eisenlösung ebenso schwach roth zu färben (1—2 Tropfen), und erfährt dann, welches Volumen der Chamäleonlösung nöthig war, um das in den 20 cc enthaltene Eisen zu oxydiren. Gesetzt, man habe in 300 cc der Eisenvitriollösung 0,324 g reines Eisen gehabt, so haben die 20 cc der Eisenlösung 0,0216 g Eisen enthalten; hätte man zur Oxydation, nach Abzug der für die Endreaction nöthigen Chamäleonlösung, 21,6 cc derselben verbraucht, so würde 1 cc der Chamäleonlösung 1 mg Fe anzeigen.

Der Titer kann auch, mit kaum geringerer Genauigkeit, auf eine Lösung von (aschefreier) Oxalsäure (S. 657) oder auf Tetraoxalat gestellt werden. Dasjenige Volumen einer Permanganatlösung, welches 1 cc einer $^1/_{50}$ normalen Oxalsäurelösung (mit 1,26 g wasserhaltiger Säure im Liter) oder Tetraoxalatlösung (mit 1,2705 g Salz im Liter) geradeauf oxydirt, zeigt 1,12 mg Fe an. Die Titerstellung wird in heisser, mit Schwefelsäure versetzter Lösung vorgenommen.

4. **Eisenfreie Salzsäure.** Man entwickelt Chlorwasserstoff, indem man nach dem von Faraday angegebenen und auch von Koninck[1]) benutzten Princip in einer Gasentwicklungsflasche concentrirte Schwefelsäure aus einem mit Hahn versehenen Tropftrichter (einem kleinen Scheidetrichter) auf grobe Salmiakstücke tropfen lässt, das Gas mit wenig Wasser wäscht und kalt gehaltenes Wasser damit sättigt. Diese frisch bereitete rauchende Salzsäure wird gut verschlossen aufbewahrt; sie hält sich einige Wochen lang unverändert; bei längerem Stehen wird sie aber wieder eisenhaltig (durch Auflösen des Glases) und man hat sie daher oft auf ihre Reinheit zu prüfen (vgl. 7).

5. **Eisenfreie Schwefelsäure.** Man destillirt englische Schwefelsäure aus einer (beschlagenen) Glasretorte ohne Kühler. Um sie zu füllen, stellt man die Retorte mit dem Hals nach oben, führt ein weites Glasrohr bis in den Bauch, durch dieses ein Trichterrohr, das länger ist als jenes und giesst die Schwefelsäure durch das Trichterrohr ein; dann zieht man das Trichterrohr ein Stück in das weitere Rohr hinauf und führt beide zusammen aus der Retorte. — Bei der Destillation darf der Boden der Retorte nicht erhitzt werden, weil die Flüssigkeit sonst stösst. Man verwendet dazu einen Gasofen mit weitem Schlangenbrenner (Fig. 46 S. 698), in dessen Mitte man einen Thoncylinder gesteckt hat, auf welchen der Boden der Retorte zu stehen kommt. Man leitet die Erhitzung so, dass das Destillat nur in einzelnen Tropfen abfliesst. — In einer Verdünnung von 13 Vol. mit 9 Vol. Wasser dient die Säure zum Auflösen des geglühten Eisenoxyds der Harnasche (Mitscherlich[2]), in beliebiger anderer Verdünnung zu der übrigen Arbeit. — Auch die Schwefelsäure wird bei langem Stehen in Glasgefässen wieder eisenhaltig.

6. **Lösung von schwefliger Säure.** Man bereitet sie in der Art wie die Salzsäure (4) aus käuflichem Natriumbisulphit und Schwefelsäure, oder durch Erwärmen von metallischem Kupfer mit concentrirter Schwefelsäure. Die wässrige Lösung hebt man in Fläschchen mit eingeriebenem Stöpsel an einem kühlen Orte auf.

7. **Rhodankalium.** Dasselbe wird aus verdünntem Alkohol umkrystallisirt, dabei aber nicht zwischen Papier abgepresst, sondern auf einem mit Glaswolle verstopften Trichter gesammelt. Eine concentrirte Lösung desselben darf mit etwas frisch destillirter Salzsäure (4) oder Schwefelsäure (5) nicht eine Spur roth werden. Sie dient zum Prüfen der Säuren auf ihre Reinheit. Zu diesem Zweck versetzt man in einem Reagensglas eine reichliche Menge der Säure mit so viel concentrirter Rhodankaliumlösung, dass alle Säure an das Kali des Rhodanids gebunden sein kann. Bleibt die Mischung farblos, dann ist die Säure verwendbar. Waltet die Säure bei der Prüfung vor, so tritt keine Röthung ein, auch wenn die Säure merklich Eisenoxyd enthält.

---

[1]) L. L. de Koninck, Ztschr. f. analyt. Ch. **19**. 467. 1880.
[2]) A. Mitscherlich, Journ. f. prakt. Ch. **81**. 110.

C. Ausführung.

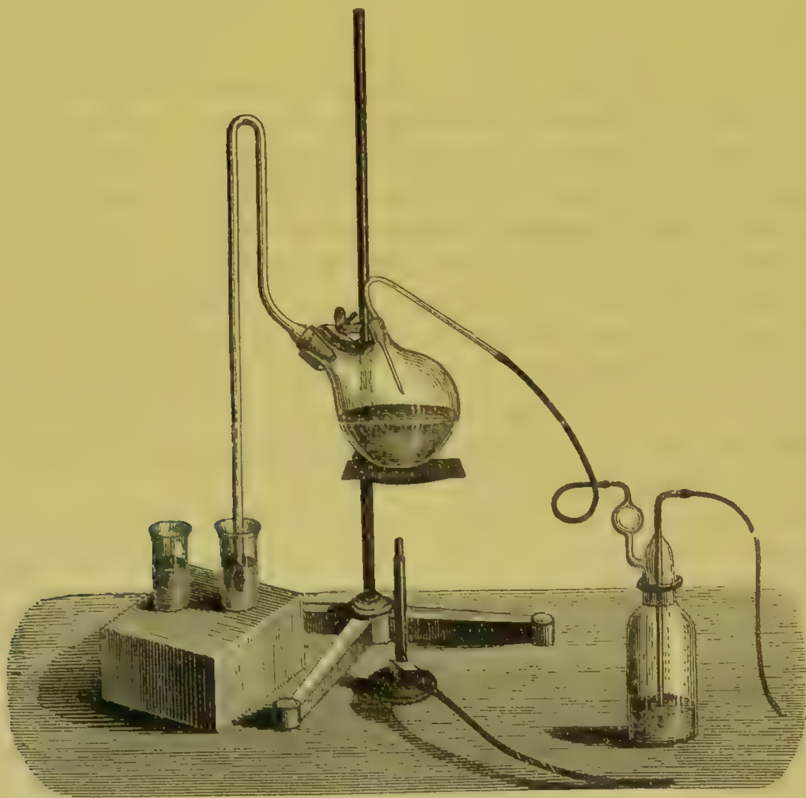
Es werden 300—500 cc Harn in einer Platinschale auf dem Wasserbade möglichst zur Trockne verdunstet, der Rückstand verkohlt, die Kohle mit rauchender Salzsäure übergossen und im Wasserbad erwärmt, um etwa entstandenes kieselsaures Eisenoxyd aufzuschliessen. Die saure Lösung wird mit etwas Wasser verdünnt und durch ein Filter abfiltrirt, das aus Papier geschnitten wurde, welches mit Salz- oder Salpetersäure ausgezogen und darauf so lange mit Wasser gewaschen war, bis es sich mit Rhodankalium nicht mehr roth färbte. Rückständige Kohle und Filter werden mit heissem Wasser bis zum Verschwinden der sauren Reaction gewaschen, die Kohle vom Filter in die Schale zurückgespült, mit einigen Tropfen Schwefelsäure übergossen, damit sich beim späteren Glühen kein Eisenchlorid verflüchtigt, die Flüssigkeit verdunstet und die Asche vollständig verbrannt. Zu dieser Asche giesst man dann das salzsaure Filtrat mit dem Waschwasser, fügt etwas verdünnte Schwefelsäure zu, verjagt die Flüssigkeit zuerst im Wasserbad, den Rest über freiem Feuer und glüht zur völligen Zerstörung etwa noch vorhandener organischer Substanz. Beim Abdampfen der Flüssigkeit über der Flamme ist man leicht Verlusten durch Verspritzen der Schwefelsäure ausgesetzt; diesen Uebelstand verhütet man, wenn man die Schale nicht am Boden, sondern blos am Rande erhitzt, und bedient sich dazu einer Vorrichtung wie bei der Destillation der Schwefelsäure (B. 5.). Die Asche wird dann in der nach Mitscherlich verdünnten Schwefelsäure gelöst, wobei man bis nahe zum Sieden erhitzt.

Man hat jetzt eine Lösung, welche von allen das Permanganat reducirenden Substanzen frei ist, und welche alles Eisen des Harns als Eisenoxyd enthält. Das Eisenoxyd ist nun vollständig zu Oxydul zu reduciren. Dies erreicht man in einfacher Weise durch Erwärmen der Lösung mit schwefliger Säure. Nach der Reduction muss die überschüssige schweflige Säure wieder bis auf die letzte Spur entfernt werden, und zwar unter Abschluss der atmosphärischen Luft, damit theilweise Wiederoxydation des Oxyduls verhütet wird. Zu diesem Zwecke bedient man sich des Apparates[1]) Fig. 52 (S. 754). In den höchstens 0,5 Ltr. haltenden zweihalsigen Kolben giesst man die schwefelsaure Lösung der Harnasche, spült die Schale, in welcher sich die Lösung befand, gut mit Wasser nach und setzt dann so viel Lösung der schwefligen Säure hinzu, dass die Mischung stark darnach riecht. Dann befestigt man den Kolben am Gestell und setzt die gut eingeschliffenen Glasrohre ein. Von diesen soll das aufsteigende Rohr mindestens 6 mm weit sein, damit es nicht von Flüssigkeitstropfen ganz ausgefüllt werden kann; sein absteigender

[1]) Der Apparat ist von Greiner u. Friedrichs in Stützerbach (Thüringen) in vorzüglicher Ausführung geliefert worden.

Schenkel taucht in Wasser. Darauf lässt man einen ziemlich lebhaften Kohlensäurestrom durch den Apparat streichen, welcher bis zur völligen Vertreibung der schwefligen Säure (einige Stunden lang) unterhalten wird; die Kohlensäure wird durch Waschen mit Kupfervitriollösung von etwa beigemengtem Schwefelwasserstoff, von fortgerissener Salzsäure durch Waschen mit verdünnter Sodalösung befreit. Während der ganzen Zeit erhitzt man die Flüssigkeit bis nahe zum Sieden. Das vorgelegte Wasser wird wiederholt gewechselt; riecht es nur noch schwach oder gar nicht

Fig. 52.



nach schwefliger Säure, so vertauscht man es gegen eine verdünnte violette Chamäleonlösung. Behält diese ihren Farbenton bei etwa 20 Minuten langem Durchleiten der Kohlensäure unverändert bei, was man am Besten durch den Vergleich mit einer ebenso concentrirten daneben gestellten Lösung erkennt, so ist alle schweflige Säure ausgetrieben. Das ist der Fall, wenn die Flüssigkeit auf ein kleines Volumen eingedampft ist. Man lässt dann den Apparat im Kohlensäurestrom vollständig erkalten, löst die Rohre aus dem Kolben, spritzt sie in denselben ab und titrirt im Kolben selbst, wie bei der Titerstellung der

Chamäleonlösung (3), wenn nöthig nach Vermehrung des Flüssigkeitsvolumens durch ausgekochtes Wasser.

Das Verfahren wird dadurch erschwert, dass man zum Vertreiben der schwefligen Säure den Apparat mit den Glasschliffen braucht. Die Glasschliffe lassen sich nicht durch Kautschukstöpsel, noch weniger durch Korke ersetzen, weil an diesen schweflige Säure haften bleibt und die Bestimmung auf alle Fälle falsch wird (Huppert[1]).

2. Nach Damaskin[2]).

Das Verfahren unterscheidet sich von dem von Hamburger durch die Art der Veraschung und dadurch, dass das gebildete Eisenoxyd mit Zink reducirt wird.

1. Bereitung der Asche. Die Tagesmenge Harn wird auf 50—100 cc eingeengt, der Rückstand in einer Platinschale erst 6—8 St. auf dem Wasserbad, dann auf mässig heissem Sandbad stehen gelassen, bis die Masse nicht mehr schäumt und zuletzt noch im Trockenschrank 24—48 St. auf 120—130 ⁰ gehalten. Der Rückstand ist nun spröde geworden und lässt sich leicht und ohne Verlust aus der Schale entfernen. Man verkohlt ihn in einzelnen Antheilen unter beständigem Umrühren in einer Platinschale vollständig, erwärmt die fein gepulverte Kohle einige Zeit mit eisenfreier Salzsäure auf dem Wasserbad, filtrirt nach dem Verdünnen mit Wasser durch ein eisenfreies Filter, und wäscht, erst durch Decantiren, dann auf dem Filter, chlorfrei. Filtrat und Waschwasser werden concentrirt, die Kohle mit dem Filter in einem Porzellantiegel möglichst weiss gebrannt, die Asche $^1/_2$ Stunde auf dem Wasserbad mit Salzsäure behandelt und die Flüssigkeit mit dem Filtrat vereinigt. Man neutralisirt mit Ammoniak, setzt Schwefelammon zu, lässt 20 St. an einem warmen Orte stehen und wäscht den Niederschlag erst durch Decantiren mit schwefelammonhaltigem Wasser, dann auf dem Filter mit reinem Wasser. Niederschlag und Filter werden in einem Platintiegel mit Schwefelsäure benetzt und weiss gebrannt, die Asche mit concentrirter Salzsäure übergossen, die Flüssigkeit im Wasserbad verjagt und der fast trockne Rückstand vorsichtig mit wenig concentrirter Schwefelsäure übergossen, wodurch die Salzsäure vollends ausgetrieben werden soll. Es wird mit Wasser übergossen, die Flüssigkeit vom Niederschlag direkt in ein 50—100 cc fassendes Maasskölbchen gegossen und der Niederschlag auf dem Filter in das Kölbchen ausgewaschen.

2. Reduction. Da das Eisen im käuflichen Zink nicht gleichmässig vertheilt ist, wurde es im Porzellantiegel geschmolzen und tropfenweise in Wasser gegossen. Die einzelnen Stücke wurden gewogen und ihr Eisengehalt bestimmt, der bei drei Analysen sehr nahe liegende Werthe ergab. Ein abgewogenes Stückchen Zink (1—3 g) wird, zur Beschleunigung der Auflösung mit etwas Platinblech oder Platindraht, in das schief gelagerte Kölbchen gebracht, wenn nöthig noch mit etwas Schwefelsäure versetzt und die Luft aus dem Kölbchen mit Kohlensäure verdrängt. Die Reduction ist nur dann als beendet anzusehen, wenn sich ein aus dem Kölbchen herausgenommener Tropfen mit Rhodankalium nicht mehr roth färbt; ist noch Eisenchlorid nachweisbar, so setzt man noch Zink zu. Ehe man die Titration vornimmt, muss alles Zink aufgelöst sein; es kann sonst, nach Mitscherlich[3]), geschehen, dass sich Eisen auf dem Zink niederschlägt und so der Bestimmung entgeht.

---

1) Huppert, Ztschr. f. physiol. Ch. 17. 87.

2) N. Damaskin, Arbeiten des pharmakol. Instituts zu Dorpat. Herausgegeben von Kobert 7. 40. 1891.

3) A. Mitscherlich, Journ. f. prakt. Ch. 86. 3; Ztschr. f. analyt. Ch. 2. 72. 1863.

3. Titration. Das Maasskölbchen, in welchem die Reduction vorgenommen wurde, wird bis zur Marke mit Wasser gefüllt, gut umgeschüttelt, in Hälften getheilt und in beiden das Eisen bestimmt. Titrirt wird mit einer auf Eisen gestellten Permanganatlösung. Von der Summe der gefundenen Werthe wird das Eisen des verbrauchten Zinks abgezogen.

3. Nach Bunge[1]).

Der Harn wird mit Natriumcarbonatlösung deutlich alkalisch gemacht, dann auf 100 g mit 0,5—1 g Na_2CO_3 versetzt und zuerst im Wasserbad, dann bei 120° so weit als möglich verdunstet. Natriumcarbonat wird zugesetzt, um beim nachfolgenden Veraschen die Bildung von pyrophosphorsaurem Eisen zu vermeiden, welches der Fällung mit Ammonacetat entgehen würde. Der trockne Rückstand wird bei beginnender Rothgluth verkohlt, die Kohle mit heissem Wasser ausgezogen, die Lösung durch ein aschefreies Filter filtrirt, Filter und Kohle nach vollständigem Trocknen eingeäschert, die Asche in verdünnter Salzsäure gelöst, die Lösung eingedampft und der Rückstand, zur Abscheidung der Kieselsäure, auf ungefähr 110° erwärmt. Dann wird nochmals in verdünnter Salzsäure gelöst, die Lösung durch ein aschefreies Filter filtrirt, das Filter ausgewaschen, das Filtrat mit Ammoniak ein wenig abgestumpft und nach dem Erkalten das Eisen durch essigsaures Ammon als phosphorsaures Eisen ausgefällt. Nach 12 St. wird der flockige Niederschlag auf einem aschefreien Filter vollständig gewaschen, das getrocknete Filter in einem Porzellantiegel für sich verbrannt, der Niederschlag dazu gegeben und geglüht. Endlich wird der Tiegelinhalt in verdünnter Salzsäure gelöst, die Hauptmenge der Salzsäure auf dem Wasserbad verjagt, der Rückstand mit Schwefelsäure aufgenommen, mit Zink reducirt, wie bei 2., und mit Chamäleonlösung titrirt. Die Reagentien müssen eisenfrei sein.

4. Nach Jolles.

Jolles[2]) schliesst die chlorfrei gewaschene Harnasche durch Schmelzen mit Kaliumpyrosulphat auf. Jolles hat nach diesem Verfahren, denen von Hamburger (I. 1.) und von Gottlieb (III. 1.), sowie durch Fällung mit Nitroso-β-Naphtol (III. 2.) vergleichende Bestimmungen ausgeführt und genügend übereinstimmende Resultate erhalten. Wie er den durch den Eisengehalt des Pyrophosphats verursachten Fehler vermieden hat, ist nicht ersichtlich.

Er reducirt das Eisenoxyd mit Zink unter Verschluss des Kölbchens mit einem Bunsen'schen Kautschukventil.

II. Jodometrisch.

Ripper hat ein von Schwarzer[3]) zur Bestimmung kleiner Eisenmengen angegebenes Verfahren auf die Analyse von (Pflanzen- und) Thieraschen angewandt. Es beruht darauf, dass Jodwasserstoff durch Eisenoxydsalz quantitativ unter Abscheidung von Jod zerlegt wird. Das frei gewordene Jod lässt sich durch Thiosulphat titriren. Dieses Verfahren scheint von allen das Beste zu sein.

Das Eisen muss in der Lösung der Asche ganz als Oxydsalz vorhanden sein. Nach Ripper bewirkt man die Oxydation am Besten durch salpetersäurefreies Wasserstoffsuperoxyd. Man färbt nach Schwarzer die Lösung mit Rhodankalium

1) Bunge, Ztschr. f. physiol. Ch. 15. 102. 1890.
2) A. Jolles, Ztschr. f. analyt. Ch. 36. 153. 1897.
3) M. Ripper, Chemiker-Zeitung 18. 133; Chem. Centralbl. 1894. 1. 523. — A. Schwarzer, Journ. f. prakt. Ch. [2] 3. 139. 1871.

roth, setzt Jodkalium in Substanz zu und erwärmt auf dem Wasserbade auf 25—30°. Wenn sich das Jodkalium gelöst hat, rührt man um und wartet, bis die ganze Flüssigkeit denselben gelben Ton angenommen hat, den die vorher am Boden befindliche concentrirte Jodkaliumlösung besass. Ein Verlust durch Verdunsten von Jod findet dabei nicht statt. Dann titrirt man mit $^1/_{100}$ n Thiosulphatlösung (§ 63. I. B. 2.) zunächst fast bis zur Farblosigkeit zurück; hat sich noch nicht alles Eisenoxydsalz mit dem Jodwasserstoff umgesetzt, so fügt man noch etwas Jodkalium zu, und titrirt, wenn die Rothfärbung völlig verschwunden ist, unter Zusatz von etwas Stärkelösung zu Ende. Die Bestimmung kann in 10 Minuten ausgeführt werden und liefert bei Verwendung von reiner Eisenoxydlösung sehr genaue und nur bei sehr grosser Verdünnung um etwa 2% zu kleine Werthe.

Das Jodkalium darf kein jodsaures Salz enthalten, weil aus diesem unter der Einwirkung der Säure Jod frei wird (§ 61. C. I. B. 1. S. 713). — Bei Gegenwart von Mangan ist das Verfahren unbrauchbar.

III. Durch Wägung.

1. Nach Gottlieb.

A. Princip. Aus einer Eisenoxydlösung fällt Ferrocyankalium alles Eisenoxyd als Berlinerblau. Aus diesem kann das Eisenoxyd durch Alkalihydrat wieder in Freiheit gesetzt und darnach gewogen werden.

B. Erfordernisse. Eisenfreie Reagentien und Geräthe wie bei I.

C. Ausführung. Gottlieb[1]) verfuhr nach E. Ludwig's Anleitung in folgender Weise. Die ganze Tagesmenge Harn wird eingedampft und der Rückstand, um die Bildung von pyrophosphorsaurem Eisen zu verhindern, nach Bunge unter Zusatz von Natriumcarbonat in einer irdenen Muffel weiss gebrannt, die Asche mit Wasser ausgezogen und das in Wasser Unlösliche in wenig Salzsäure gelöst. Aus der salzsauren Lösung, welche das Eisen und die Phosphate enthält, wird das Eisenoxyd durch Ferrocyankalium gefällt; da sich aber das entstehende Berlinerblau wegen seiner ungemein feinen Vertheilung nicht gut filtriren lässt, so wird der Niederschlag durch gleichzeitige Erzeugung eines Niederschlags von Ferrocyanzink dichter gemacht. Es wird daher die salzsaure Lösung mit einigen Tropfen einer etwa 1 proc. Chlorzinklösung versetzt, darauf mit Ferrocyankalium vollständig ausgefällt und das überschüssige Fällungsmittel durch Chlorzink beseitigt. Der auf dem Filter gesammelte Niederschlag wird zur Entfernung der Phosphate mit saurem Wasser nachgewaschen und auf dem Filter mit heisser 2 proc. Kalilauge zerlegt. Nach vollständiger Zersetzung des Niederschlags wäscht man zuerst mit heissem, dann mit kaltem Wasser alles aus der Zersetzung stammende Ferrocyankalium sehr gut aus, löst den Niederschlag in verdünnter Salzsäure und fällt das Eisen im Filtrat mit Ammoniak. Der gebildete Eisenoxydniederschlag enthält noch Zink,

---

[1]) R. Gottlieb, Arch. f. exper. Pathol. **26**. 139. 1889; Ztschr. f. physiol. Ch. **15**. 373 f. 1891.

das sich aber durch wiederholtes Lösen des Niederschlags in Säure und Fällen mit Ammoniak ganz gut entfernen lässt. Der zuletzt erhaltene Eisenoxydniederschlag wird getrocknet und gewogen.

Der grobflockige Niederschlag von Ferrocyanzink hält das Berlinerblau zusammen und macht es filtrirbar. Nach längerem Stehen wird der Zinkniederschlag krystallinisch und dann erhält man kein farbloses Filtrat. Durch Zusatz einiger Tropfen Ferrocyankalium entsteht wieder ein flockiger Niederschlag und die Filtration geht wieder anstandslos von Statten.

2. Nach Jolles.

Nach Ilinski und v. Knorre wird Eisenoxyd aus neutraler oder schwach saurer Lösung durch Nitroso-β-Naphtol quantitativ als $(C_{10}H_6O.NO)_3Fe$ in Form eines voluminösen braunschwarzen Niederschlags gefällt; beim Glühen hinterlässt die Verbindung reines Eisenoxyd. Mittelst dieser Verbindung hat Jolles[1]) das Eisen im Harn bestimmt.

Der Niederschlag löst sich in mässig verdünnter Salzsäure oder Schwefelsäure in der Wärme, in Eisessig schon in der Kälte, aber in der Kälte nicht in Salzsäure von 1,12 Dichte, die auf das 10 fache ihres Volumens verdünnt ist (aber in concentrirterer) und nicht in 50 proc. Essigsäure. Ferrosalz giebt mit dem Reagens gleichfalls einen (grünschwarzen) Niederschlag, der bei längerem Stehen, schneller beim Erwärmen mit Säuren (Salzsäure, Schwefelsäure, Essigsäure) in die Ferriverbindung übergeht.

Bei der Bestimmung verfährt man demnach nach Jlinski und v. Knorre in folgender Weise. Das Eisen soll als Sulphat oder Chlorid zugegen sein. Eine Oxydation zur Ueberführung etwa vorhandenen Eisenoxyduls in Oxyd ist nur bei grossen Mengen Eisen nöthig, bei der Harnasche also nicht. Die concentrirte Lösung wird mit Ammoniak übersättigt, der entstandene Niederschlag mit einigen Tropfen Salzsäure gelöst und die kalte Flüssigkeit mit einer Lösung von (krystallisirtem) Nitroso-β-Naphtol in 50 proc. Essigsäure vermischt. Man braucht dazu mindestens das 10 fache des Eisens an Reagens. Nach 6—8 stündigem Stehen wird der Niederschlag erst mit 50 proc. Essigsäure, dann mit kaltem Wasser gewaschen, bis ein Tropfen Filtrat auf dem Platinblech keinen Rückstand mehr hinterlässt. Ist die Flüssigkeit dann noch gelb gefärbt, so rührt dies von mit ausgefallenem Reagens her und man kann das weitere Waschen unterlassen. Der Niederschlag ist nach dem Trocknen im Porzellantiegel zu veraschen, was zweckmässig unter Zusatz von reiner Oxalsäure geschieht, weil sonst durch Verpuffung leicht Verluste eintreten. Man bringt in das Filter ein dem Niederschlag gleiches Volumen Oxalsäure, schliesst das Filter und erhitzt anfangs mit sehr kleiner Flamme; entweichen keine Dämpfe mehr, so steigert man die Hitze und glüht zuletzt unter Luftzutritt.

Jolles zieht die Harnasche mit Wasser aus und löst den Rückstand unter Erwärmen in wenig concentrirter Salzsäure. Diese Lösung wird nach dem Erkalten mit einem Ueberschuss der Nitroso-β-Naphtollösung versetzt, 5 Min. gerührt, nach 5 Min. langem Stehen auf ein mit 50 proc. Essigsäure benetztes Filter gebracht und mit dieser Essigsäure ausgewaschen, bis die ablaufenden Tropfen schwach gelb gefärbt erscheinen. In der Regel beträgt das Filtrat bei Verarbeitung von 500 cc Harn nicht mehr als 20—25 cc. Was weiter mit dem Niederschlag zu geschehen hat, giebt Jolles nicht an.

---

[1]) M. Jlinski und G. v. Knorre, Berichte d. chem. Gesellsch. **18**. 2728. 1885. — v. Knorre, daselbst **20**. 286. 1887. — Jolles, Ztschr. f. analyt. Ch. **36**. 154. 1897.

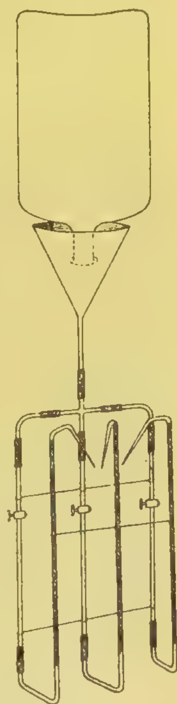
3. Nach Bunge.

Das Ferriphosphat $FePO_4$, welches man nach I. 3 erhalten hat, kann man, statt das in ihm enthaltene Eisen zu reduciren, direkt wägen. Nach der Angabe von Socin[1]) stimmen die durch Wägen erhaltenen Zahlen mit den sich beim Titriren ergebenden gut überein.

IV. Colorimetrisch.

Lapicque schied das Eisen aus der Harnasche als Ferriphosphat ab, löste dieses in Schwefelsäure, versetzte die Lösung mit Rhodanammon und verglich diese Lösung colorimetrisch mit einer anderen von bekanntem Eisengehalt. Gegen dieses Verfahren macht sich das principielle Bedenken geltend, dass sich bei Verwendung von Rhodankalium das Doppelsalz $Fe(CNS)_3$, 9 KCNS, auf welchem die Färbung beruht, nach Krüss und Moraht durch Wasser, Neutralsalze, Salzsäure zersetzt (§ 19. B. 3. a. S. 217) und dass nach Riban in Folge der bei der Verdünnung eintretenden Dissociation des Salzes die Färbung nicht proportional der Verdünnung abnimmt. Dementsprechend hat Damaskin[2]) bei dieser colorimetrischen Bestimmung stets bedeutend weniger Eisen gefunden, als durch Titriren mit Chamäleon.

Fig. 53.



5. Bestimmung des Quecksilbers.

1. Nach Winternitz[3]).

Der mit 0,1 Vol. Salzsäure versetzte und nach 1—2 Tagen filtrirte Harn (vom Menschen) strömt an Rollen von engmaschigem Kupferdrahtnetz aus schwachem Draht, die sich in 6 mm weiten Glasröhren befinden (Fig. 53), in aufsteigender Richtung mit einer Geschwindigkeit von 50 Tropfen in der Minute vorüber. Eine Länge der Rollen von 30 cm genügt für die Aufnahme des Quecksilbers aus 1 *l* Harn. Man lässt den Harn zweimal hintereinander durch die Glasröhren fliessen. Die Netzrollen werden erst mit Wasser säurefrei, dann mit Alkohol und mit Aether gewaschen und in einem Luftstrom getrocknet. Darauf werden sie, wie das Metall bei dem qualitativen Versuch (S. 603), ausgeglüht und das entweichende Quecksilber in einer Capillare gesammelt. Zwischen den Netzrollen und der Capillare befindet sich eine Schicht körniges Kupferoxyd zur Zerstörung flüchtiger organischer Substanz und eine Silberspirale zur Aufnahme sich etwa entwickelnden Jods. Die Capillare ist am äussersten Ende, um das Entweichen von Quecksilberdampf zu verhindern, eine kurze Strecke weit mit einem Pfropf von ächtem Blattgold lose

---

1) C. A. Socin, Ztschr. f. physiol. Cb. **15**. 104.

2) L. Lapicque, Bull. de la Soc. chim. [3] **7**. 113. 1889; **13**. 282. 1895. — J. Riban, daselbst [3] **6**. 916. — N. Damaskin, Arbeiten aus dem pharmakologischen Institut zu Dorpat, herausgegeben von Kobert **7**. 49. 1891.

3) R. Winternitz, Arch. f. exper. Pathol. **25**. 229. 1889.

verschlossen. Das Bajonettrohr, in welchem das Glühen (im Verbrennungsofen) vorgenommen wird, wird kalt $^1/_4$ Stunde mit trockener Kohlensäure gewaschen, dann bringt man erst das Kupferoxyd und das Silber zum Glühen und erhitzt darauf das Drahtnetz von rückwärts nach der Capillare zu in einem schwachen Kohlensäurestrom (40 Blasen in der Minute) $^1/_2$—$^3/_4$ Stunde. Die Capillare wird zuletzt abgeschnitten, in einem Strom trockener Luft bis zur Gewichtsconstanz getrocknet, gewogen und in einem Strom trockener Kohlensäure geglüht und wieder gewogen. Die Gewichtsdifferenz ergiebt die Menge des Quecksilbers. Die Resultate sind sehr genau. — Hundeharn muss nach Böhm vor dem Ueberleiten über das Drahtnetz mit chlorsaurem Kali und Salzsäure behandelt werden (§ 46. A. 1. S. 602).

2. Nach Jolles.

Das Quecksilber wird nach dem § 46. A. 1. S. 603 beschriebenen Verfahren auf 16—20 g gekörntem Gold niedergeschlagen, das Amalgam nach einander mit Wasser, Alkohol, Aether gewaschen, in einem Röhrchen bei 40° getrocknet, gewogen, dann geglüht und wieder gewogen. Der Gewichtsverlust giebt die Menge des vorhanden gewesenen Quecksilbers an. Die Bestimmungen fallen nach Jolles sehr genau aus.

3. Nach Ludwig und Zillner.[1]

Der Harn wurde bei gelinder Wärme mit Salzsäure und mit Zinkstaub versetzt (§ 46. A. 1. S. 602) und unter wiederholtem Rühren einige Stunden stehen gelassen. Der Zinkstaub wird dann durch Decantiren erst mit Wasser, dann mit sehr schwacher Natronlauge und zuletzt wieder mit Wasser gewaschen, auf einem mit Glaswolle verstopften Trichter gesammelt, durch Uebergiessen mit Alkohol vom Wasser befreit und in einem Luftstrom getrocknet. Dann wird das Quecksilber aus dem Amalgam abdestillirt. Dazu wird ein Verbrennungsrohr an dem einen Ende zu einem U-Rohr von geringem Durchmesser ausgezogen. Dem U-Rohr zunächst kommt dann ein Asbestpfropf, dann eine Schicht frischgebrannter Kalk in hanfkorngrossen Stücken, eine Schicht körniges Kupferoxyd, zuletzt der Zinkstaub. Zwischen jeder Schicht und am Ende befindet sich ein Asbestpfropf. Das Rohr wird in einen Verbrennungsofen so gelegt, dass das U-Rohr herausragt; es kann durch kaltes Wasser gekühlt werden. Man erhitzt in einem langsamen Strom trockner Luft den Kalk und das Kupferoxyd zum Glühen, darauf den Zinkstaub, diesen aber nur schwach. Nach 1 Stunde hat sich alles Quecksilber und überdestillirtes Wasser im U-Rohr angesammelt. Das U-Rohr wird abgeschnitten, durch einen Luftstrom vom Wasser befreit und gewogen. Man treibt dann aus dem erhitzten Rohr das Quecksilber mittelst eines Blasebalges aus dem Rohr und wägt es nach dem Erkalten wieder.

Bestimmung organischer Substanzen.

§. 63. Bestimmung des Acetons.

I. Als Jodoform.

1. Nach Messinger (Vincent und Delachanal).

Das Verfahren ist zuerst von Vincent und Delachanal und darauf von Messinger[2]) zur Bestimmung des Acetons im Methylalkohol angewendet worden und hat dabei gute Resultate ergeben. In

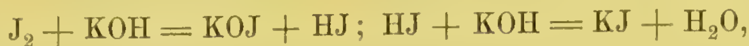
---

1) E. Zillner, Wiener klin. Wochenschr. 45. 1889. 28—32. 1890; Ztschr. f. anal. Ch. **30**. 258.

2) Vincent u. Delachanal, Rapport sur l'École pratique des Hautes-Études 1881/82. 26; Bull. de la Soc. chim. [3] **3**. 681. 1890. — J. Messinger, Berichte d. chem. Gesellsch. **21**. 3366. 1888.

der nachstehend beschriebenen Form ist es nach meinen Ermittelungen auch zur Bestimmung des Acetons im Harn geeignet.

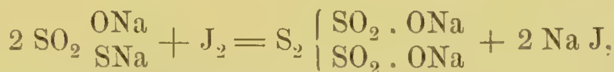
A. Princip. Aceton wird in alkalischer Lösung durch Jod-Jodkalium in Jodoform übergeführt. Das Jod wirkt dabei aber nicht als solches auf das Aceton ein, sondern als unterjodigsaures Salz, MOJ, welches sich bei dem Zusammentreffen des Jods mit dem Alkalihydrat bildet; ist dieses Kaliumhydrat, so verläuft diese Reaction nach



$$J_2 + KOH = KOJ + HJ; \; HJ + KOH = KJ + H_2O,$$

es entstehen unterjodigsaures Salz und Jodkalium nach gleichen Molekülen. Säuert man die Flüssigkeit an, wenn das unterjodigsaure Salz nicht auf das Aceton eingewirkt hat, so entsteht bei der Umkehrung der Reaction wieder Jod in der ursprünglichen Menge. Bei der Bildung von Jodoform wird unterjodigsaures Salz verbraucht. Säuert man die Flüssigkeit nach Ablauf der Reaction an, so wirkt nur das noch vorhandene Hypojodit auf das Jodkalium unter Bildung von freiem Jod ein, und von der ursprünglich vorhandenen Jodmenge fehlt nun nicht blos das im verbrauchten Hypojodit enthalten gewesene Jod, sondern auch das Jod aus der äquivalenten Menge Jodkalium, welches zur Umsetzung der Hypojodits in Jod nothwendig ist. Nach den S. 57 angegebenen Gleichungen entsteht aus 1 Mol. Aceton $CH_3 . CO . CH_3$ 1 Mol. Jodoform CHJ_3; es erfordert demnach 1 Mol. Aceton 3 Atome J aus dem unterjodigsauren Salz und weitere 3 Atome J aus dem KJ können nicht wieder gefunden werden; der Gesammtverbrauch an Jod für 1 Mol. Aceton beträgt demnach $6 J = 3 J_2$.

Das übriggebliebene Jod wird zurücktitrirt mit unterschwefligsaurem Natron (Natriumthiosulphat), das dabei in tetrathionsaures Natron übergeht nach



$$2 SO_2 \begin{matrix} ONa \\ SNa \end{matrix} + J_2 = S_2 \left\{ \begin{matrix} SO_2 . ONa \\ SO_2 . ONa \end{matrix} \right. + 2 Na J,$$

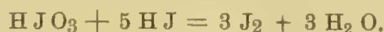
und aus der Menge des verbrauchten Jods die Menge des Acetons berechnet

Neben dieser Reaction geht noch eine andere einher, welche bei dem Verfahren in Betracht kommt. Das unterjodigsaure Salz verwandelt sich in jodsaures nach



$$3 KOJ = KJO_3 + 2 KJ \text{ oder } 3 J_2 + 6 KOH = KJO_3 + 5 KJ + 3 H_2O,$$

und dieser Theil des Hypojodits ist für die Bildung des Jodoforms verloren. Diese Reaction vollzieht sich schnell; nach Schwicker[1]) ist sie bei einem Ueberschusse von Kaliumhydrat in 30 Min. fast ganz beendet. Es ist also dem Aceton erheblich mehr Jod zuzusetzen, als die Rechnung nach der Bildungsgleichung erfordert. Das bei der Bildung des Jodats verbrauchte Jod wird aber bei der Titrirung wieder gefunden; beim Ansäuern der Flüssigkeit wird das Jod wieder frei nach



$$HJO_3 + 5 HJ = 3 J_2 + 3 H_2O.$$

[1]) A. Schwicker, Ztschr. f. physikal. Ch. 16. 303. 1895.

Der Fehler der Bestimmung beträgt bei der Anwendung von reinem Aceton nach Collischonn noch nicht 1 %; nach Geelmuyden findet man, unabhängig von der Menge des Acetons, zwischen 0,36 mg zu wenig und 0,23 mg zu viel. Bei der Bestimmung des Acetons im Harn erleidet man nach Geelmuyden einen Verlust von durchschnittlich 8 %, nach Zoepffel[1]) einen Verlust von 4 %. Vorhandene Acetessigsäure wird als Aceton mitbestimmt.

B. Erfordernisse.

1. Eine Lösung von 3,2483 g Kaliumbijodat $KH(JO_3)_2$ im Liter. Sie dient nach Than sowie Meinecke[2]) zur Titerstellung des Thiosulphats (2). **Die Lösung ist haltbar.**

Zur Darstellung des Salzes werden nach einer wahrscheinlich von v. Than herrührenden Vorschrift in der Pharmacopoea Hungarica, Editio II., 16 g Jod, 15 g Kaliumchlorat, 80 g Wasser und 3—4 Tropfen concentrirter Salpetersäure im Wasserbad erwärmt, bis alles Jod verschwunden ist, dann wird aufgekocht und filtrirt. Das sich ausscheidende Salz wird noch zweimal umkrystallisirt, jedesmal abgesogen und gewaschen, dann zwischen Filtrirpapier getrocknet, zerrieben und bei 100° völlig getrocknet. Das Salz kann von E. Merck in Darmstadt bezogen werden. — Jodsäure ist an Stelle des Kaliumbijodats nicht zu brauchen (Walker[3]).

2. Zehntel normal Thiosulphat. Die Lösung soll 24,8 g reines Natriumthiosulphat $S_2O_3Na_2 . 5H_2O$ im Liter enthalten. Man stellt sich zuerst eine etwas concentrirtere Lösung her, bestimmt ihren Gehalt nach 3 und trifft **darnach die Verdünnung.**

Der Titer der Lösung hält sich nur dann, wenn das Salz rein ist. Auf Schwefelsäure und schweflige Säure prüft man in der Weise, dass man der Lösung Jodjodkalium bis zu schwacher Gelbfärbung hinzufügt und dann Barytsalz zusetzt, weil schwefelsaurer Baryt im Thiosulphat löslich ist. Auch Calcium wird erst nach der Oxydation des Hyposulphits als Oxalat vollständig gefällt. Chlor weist man mit Silbernitrat nach, nachdem man die unterschweflige Säure durch Kochen mit überschüssiger Essigsäure zerstört und die Flüssigkeit filtrirt hat. Reinigen kann man das Salz nach Meinecke[4]), wenn man es mit 96 proc. Alkohol zerreibt, absaugt, mit absolutem Alkohol und darauf mit Aether wäscht und zwischen Papier trocknet.

3. Titerstellung der Thiosulphatlösung. Die Verwendung des Kaliumbijodats zur Titerstellung beruht darauf, dass es sich in Gegenwart von freier Säure (Salzsäure oder Schwefelsäure) mit Jodkalium umsetzt nach



$$KH(JO_3)_2 + 10\,KJ + 11\,HCl = 11\,KCl + 6\,H_2O + 6\,J_2.$$

Man misst in einen 250 cc fassenden Kolben mit eingeschliffenem Glasstöpsel 50 cc der Bijodatlösung, setzt ungefähr 2 g Jodkalium und 2—3 cc Salzsäure von 1,12 Dichte zu, lässt 5 Min. verschlossen stehen, verdünnt und lässt soviel Thiosulphatlösung zufliessen, bis die Flüssigkeit nur noch schwach gelb erscheint; dann setzt man etwas Stärkelösung zu und titrirt bis zum Verschwinden der blauen Färbung. Die Hyposulphitlösung hat die richtige Concentration, wenn dazu von

---

1) F. Collischonn, Ztschr. f. anal. Ch. **29**. 562. — H. Ch. Geelmuyden, daselbst **35**. 503. — V. Zoepffel, Pharm. Ztschr. f. Russland **34**. 40; Chem. Centralbl. 1895. **1**. 513.

2) C. Than, Ztschr. f. analyt. Ch. **16**. 477. 1877. — C. Meinecke, Chemikerztg. **19**. 2; Ztschr. f. analyt. Ch. **35**. 339; Chem. Centralbl. 1895. **1**. 297.

3) C. F. Walker, Amer. Journ. of Science [4] **4**. 235; Chem. Centralbl. 1897. **2**. 805.

4) Meinecke, Chemikerztg. **17**. 33; Chem. Centralbl. 1894. **2**. 448.

derselben ein der Bijodatlösung gleiches Volumen verbraucht wird. Das verwendete Jodkalium darf kein jodsaures Salz enthalten (§. 61. c. I. B. 1. S. 713).

4. Zehntelnormal-Jodlösung. Eine solche enthält im Liter 12.685 g Jod. Man wägt Jod in einem Trockengläschen (Fig. 47. S. 699) ab, löst es in der Kälte in einer concentrirten Jodkaliumlösung mit ungefähr doppelt so viel Jodkalium als Jod, und verdünnt nicht ganz auf das berechnete Volumen. Den Gehalt der Lösung an Jod bestimmt man durch Titriren auf die Thiosulphatlösung. Man versetzt 20 cc oder ein grösseres Volumen mit Stärkelösung und lässt aus einer Glashahnburette (Fig. 27 u. 28, S. 645) soviel der Jodlösung zufliessen, bis die Mischung eben dauernd blau geworden ist, und darauf wieder Thiosulphatlösung bis gerade zur Entfärbung. Es soll dazu ein der Thiosulphatlösung gleiches Volumen Jodlösung verbraucht werden. Die zu concentrirte Jodlösung verdünnt man entsprechend der gefundenen Concentration.

Von der richtig gestellten Jodlösung zeigt 1 cc $\frac{58}{60}$ = 0,967 mg Aceton an.

Die Jodlösung ändert beim Aufbewahren ihren Titer, bei älteren Lösungen ist er also auf's Neue mittelst der Hyposulphitlösung zu bestimmen. Da diese sich aber auch verändert haben kann, so ist ihr Titer wieder mit der Bijodatlösung festzustellen.

5. Stärkelösung.

C. Ausführung. Das Aceton muss aus dem Harn abdestillirt werden, das Destillat darf aber weder Phenol, noch Ammoniak, noch salpetrige Säure oder Ameisensäure enthalten. Das Phenol wird durch die unterjodige Säure in Trijodphenol übergeführt, welches das Jod nicht wieder an das Thiosulphat abgiebt; Ameisensäure wird durch Jod unter Bildung von Jodwasserstoff oxydirt; das Ammoniak wird durch die unterjodige Säure in Jodstickstoff verwandelt, welcher zuletzt zu Jodalkali wird. In allen diesen Fällen hat man also Verlust an Jod. Die salpetrige Säure macht dagegen aus dem Jodalkali Jod frei. Das Ammoniak kann durch dem Harn zugesetzte Säure zurückgehalten werden. Salzsäure ist dazu nicht geeignet; sie verhütet zwar das Uebergehen von Ammoniak in das Destillat, aber solche von 1,12 Dichte zerlegt schon in einer Menge von 2 cc auf 100 cc Harn die Phenolätherschwefelsäuren und man verbraucht für das Destillat zu viel Jod. Ein Zusatz von 5cc 50proc. Essigsäure zu 100 cc Harn hält das Ammoniak zwar gleichfalls zurück, bewirkt aber auch, dass das Destillat phenolhaltig wird. Versetzt man den Harn auf 100 cc mit nur 2 cc 50proc. Essigsäure, so ist das Destillat frei von Phenol, enthält aber, obwohl es vom ersten bis zum letzten Tropfen sauer reagirt, Ammoniak. Dieses Ammoniak kann aber beseitigt werden, wenn man das Destillat nach Zusatz von 1 cc 8 fach verdünnter Schwefelsäure nochmals der Destillation unterwirft. Man verfährt demnach so, dass man normal sauren Harn nach Zusatz von 2 cc 50 proc. Essigsäure auf 100 cc Harn und das Destillat wieder nach Zusatz von 1 cc 8 fach verdünnter Schwefelsäure destillirt.

Die Gegenwart der salpetrigen Säure im Destillat erkennt man daran, dass die Flüssigkeit bei Gegenwart freier Säure Jodkaliumkleister

bläut. Sie und die Ameisensäure lassen sich leicht durch Zusatz von etwas Calciumcarbonat zu dem ersten Destillat entfernen.

Dampft man 100 cc normalen Harn, zur Verjagung des Acetons, auf $^1/_8$—$^1/_{10}$ Volumen ein und unterwirft man den Rückstand nach dem Auffüllen auf 100 cc der beschriebenen Behandlung, so bindet das zweite Destillat entweder gar kein Jod oder nur Spuren. — Da doch die kleine Menge Essigsäure das Ammoniak nicht völlig bindet, so könnte man sie für die erste Destillation für entbehrlich halten; dies ist jedoch nicht der Fall, weil Harn ohne Zusatz von Säure beim Kochen viel zu stark schäumt und leicht übersteigt. — Alkalischen Harn bringt man durch Zusatz von Essigsäure vorher auf die normal saure Reaction. — Die Menge Harn, welche man für die Destillation verwendet, hängt von seinem Gehalt an Aceton ab; normaler Harn enthält in 100 cc ungefähr 1 mg Aceton, das Destillat würde also ungefähr 1 cc der Jodlösung verbrauchen; man nimmt von normalem Harn also etwa 0,5 *l* in Arbeit. Fieberharn kann bis 0,5 g Aceton in der Tagesmenge enthalten und man kommt mit 100 cc und weniger für eine Bestimmung aus.

Man destillirt unter guter Kühlung 0,9 ab. Um die Verdunstung des leicht flüchtigen Acetons möglichst zu beschränken, wird das Destillat in einer mit doppelt durchbohrtem Kork versehenen, mit Eis gekühlten Vorlage aufgefangen; mit der einen Bohrung wird die Vorlage am Kühler befestigt, die andere Bohrung setzt sie mit einem mit Wasser gefüllten Kugelapparat, einem Peligot'schen U-Rohr oder dergleichen in Verbindung, um das entweichende Aceton aufzunehmen. Das vorgelegte Wasser wird dem Destillat hinzugefügt. Das erste Destillat fängt man in einem zweiten Destillationskolben auf, das zweite in einer Flasche mit gut eingeriebenem Glasstöpsel; sie soll so gross sein, dass sie vom Destillat, den Spülwässern und den Reagentien nur bis zu $^1/_3$ gefüllt wird, weil das Jodoform in der (alkalischen) Flüssigkeit an der Wand weit hinauf kriecht und weil sich sonst die Flasche beim Titriren nicht umschwenken lässt, ohne dass man sie verschliesst.

Das zweite Destillat versetzt man in einer Flasche mit gut passendem Glasstöpsel in grossem Ueberschuss mit einer abgemessenen Menge Jodlösung (4), schwenkt um und tropft darauf starke nitritfreie Natron- oder Kalilauge im Ueberschuss zu. Die Farbe des Jods verschwindet dabei, ein Niederschlag von Jodoform tritt aber erst bei einem Ueberschuss von Alkalihydrat auf. Einen Gehalt des Destillats an Ammoniak erkennt man daran, dass die Flüssigkeit an der Grenze zwischen der zu Boden gesunkenen Lauge und der aufschwimmenden Jodlösung eine schwärzliche Trübung zeigt; eine solche Probe ist zu verwerfen. Nach genügendem Zusatz von Lauge verschliesst man die Flasche mit dem Glasstopfen, schüttelt $^1/_4$ Minute und lässt noch 5 Minuten lang stehen. Das Jodoform ballt sich dabei zusammen und die Flüssigkeit klärt sich, was für das Zurücktitriren des Jods zwar angenehm, aber nicht durchaus erforderlich ist. Das Schütteln beschleunigt ferner, was die Hauptsache ist, die Bildung des Jodoforms; unmittelbar nach dem Mischen darf man das Jod nicht zurücktitriren, weil man sonst zu viel Jod wieder findet. Nach dem Schütteln spritzt man den Stöpsel in die Flasche ab und säuert die Flüssigkeit mit gewöhnlicher concentrirter Salzsäure wieder an. In der durch die Säure braun gewordenen Flüssig-

keit titrirt man das Jod zurück. Man lässt Thiosulphatlösung aus der Burette zufliessen, bis die Mischung nur noch schwach gelb ist und fügt dann einige Cubikcentimeter Stärkelösung zu. Die Flüssigkeit erscheint zunächst grün oder braungrün, wird aber, je weiter man mit dem Zusatz des Thiosulphats fortschreitet, immer reiner blau. Ist die rein blaue Färbung eingetreten, so braucht man vom Thiosulphat nur noch Tropfen bis zum Verschwinden der blauen Farbe. Hat man die Grenze überschritten, so misst man noch etwas Jodlösung in die Flüssigkeit, und titrirt aufs Neue zurück. Die zuletzt zugesetzte Jodmenge wird dem gesammten Volumen der Jodlösung hinzugezählt.

2. Nach Supino und nach Argenson[1]).

Das aus dem Harn abdestillirte Aceton wird unter Zusatz von Natronlauge durch einen grossen Ueberschuss von Jod-Jodkalium in Jodoform übergeführt, das auf dem Filter gewaschene Jodoform mit alkoholischer Kali- oder Natronlösung gekocht und in dem gebildeten Jodalkali das Jod mit Silbernitrat titrirt. Nach den von Argenson mitgetheilten Belegen finden bei der Bestimmung sehr beträchtliche Verluste statt und ist das Verfahren demnach unbrauchbar.

II. Mittelst Phenylhydrazin nach Strache[2]).

A. Princip. Phenylhydrazin entwickelt bei der Behandlung mit Fehling-scher Lösung seinen gesammten Stickstoff gasförmig, während die Verbindung des Acetons mit Phenylhydrazin (§. 5. B. 2. c. S. 57) unzersetzt bleibt. Lässt man auf ein Gemisch von einer bekannten Menge Phenylhydrazin mit einer unbekannten Menge Aceton Fehling'sche Flüssigkeit einwirken, so bleibt die entwickelte Menge Stickstoff hinter der, welche das Phenylhydrazin geben sollte, um so viel zurück, als in dem Acetonhydrazon enthalten ist. Daraus lässt sich die Menge des Acetons berechnen.

Zu den Bestimmungen wäre das aus dem Harn abdestillirte Aceton zu verwenden. Nach Strache ergeben aber schon reine Acetonlösungen mit nur 0,01—0,1 g Fehler von 20—32 %; das Verfahren ist darnach zur Bestimmung des Acetons im Harn nicht geeignet. Jolles[3]) giebt gleichwohl an, nach dieser Methode im Harn nahezu ebensoviel Aceton gefunden zu haben, wie nach Messinger (I. 1.).

III. Vaporimetrisch.

Parlato[4]) hat das Geissler'sche Vaporimeter zur Bestimmung des Acetons im Harn benützt. Das Vaporimeter war mittelst Acetonlösungen von bekanntem Gehalt (1—5 %) geaicht. Bei 1 % Aceton entsprach die Dampftension 17—18 Theilstrichen der Skala. Von 200 cc Harn wurden nach Zusatz von 1 cc Phosphorsäure 20—30 cc in einen graduirten Cylinder abdestillirt, das Destillat zur Entfernung der Kohlensäure, mit einer kleinen Menge Aetzkalk geschüttelt (dieser bindet aber auch die Salzsäure, das Phenol und andere flüchtige saure Substanzen, aber nicht das Ammoniak) und nach kurzer Zeit in das Vaporimeterkölbchen filtrirt. Versuche mit Harn, welchem bekannte Mengen Aceton zugesetzt waren, ergaben dann etwas zu kleine, aber nahezu richtige Werthe.

---

1) R. Supino, Rivista generale italiana 11. 1892; Ztschr. f. analyt. Ch. **32**. 515. — G. Argenson, Bull. de la Soc. chim. [3] **15**. 1055. 1896; Chem. Centralbl. 1896. **2**. 811.

2) H. Strache, Monatshefte f. Chemie **12**. 524. 1891; **13**. 299. 1892.

3) A. Jolles, Wiener med. Wochenschr. **42**. 703. 1892.

4) E. Parlato, Virchow's Archiv **140**. 19. 1895.

IV. Colorimetrisch.

Le Nobel hat zur colorimetrischen Bestimmung des Acetons zwei Verfahren vorgeschlagen, nämlich die Färbung durch Nitroprussidnatrium und die Bestimmung des vom Aceton gelösten Quecksilberoxyds als Schwefelquecksilber. Nach v. Jaksch[1]) liefern sie ganz unbrauchbare Resultate.

§. 64. Bestimmung des Chloroforms.

Man leitet nach Schmiedeberg sowie nach Pohl[2]) den Chloroformdampf mittelst eines langsamen Luftstroms durch glühenden, in einem Verbrennungsrohr befindlichen chlorfreien Kalk oder durch chlorfreie gebrannte Magnesia, wobei das Chloroform unter vollständiger Abgabe seines Chlors an das Erdalkali zersetzt wird. Man löst den Kalk (die Magnesia) in Salpetersäure, die weder Salzsäure noch salpetrige Säure enthalten darf, und titrirt das Chlor nach Volhard (§. 61. A. I. S. 705) mit $^1/_{10}$ normaler Silberlösung. 1 cc derselben zeigt 3,983 mg Chloroform an.

§. 65. Bestimmung der Kohlenhydrate.

I. Bestimmung des Traubenzuckers.

Der Zucker kann bestimmt werden durch Titriren und durch Polarisation; in Vorschlag gebracht ist dazu auch die Gährung. Die Bestimmung durch Titriren beruht auf der Ermittelung derjenigen Menge Kupferoxyd oder Quecksilberoxyd, welche die gegebene Menge Zucker unter bestimmten Bedingungen in alkalischer Lösung geradeauf reducirt.

1. Bestimmung durch Titriren.

A. Nach Fehling[3]).

A. Princip. Diese Methode beruht auf den § 6. II. 1. B. 5. b. S. 101 dargelegten Umständen. Man verwendet zu den Bestimmungen Fehling'sche Flüssigkeit. Nach Soxhlet erhält man nur dann richtige Resultate, wenn die Fehling'sche Lösung auf das 5fache verdünnt ist, die untersuchte Zuckerlösung zwischen 0,5 und 1,0 % Zucker enthält und die Zuckerlösung auf einmal in die Fehling'sche Flüssigkeit eingetragen wird. Die Resultate fallen dann bis auf ± 0,2 % des Zuckers genau aus. Diesen Bedingungen ist in der unter C. gegebenen Vorschrift entsprochen.

---

[1]) le Nobel, Archiv f. exper. Pathol. 18. 15. — v. Jaksch, Zeitschr. f. klin. Med. 8. 145.

[2]) O. Schmiedeberg, Archiv d. Heilkunde 1867. 273. — J. Pohl, Arch. f. exper. Pathol. 28. 241. 1891.

[3]) Fehling, Archiv f. physiol. Heilk. 1848. 64; Ann. d. Chem. u. Pharm. 72. 106. 1849; 106. 75.

B. Bereitung der Fehling'schen Lösung.

1. Die Lösung soll im Liter nach Soxhlet genau 34,64 g krystallisirten Kupfervitriol enthalten. Sie wird durch Mischen einer Kupfervitriollösung mit einer Seignettesalzlösung und mit Natronlauge hergestellt und sind dazu, um eine Lösung von weinsaurem Kupfer in der Lauge zu erhalten, auf 1 Mol. $CuSO_4$, $5 H_2O$ (249,4), 2 Mol. $KNaC_4H_4O_6$, $4 H_2O$ (rund 282) und 4 Mol. $NaHO$ (40) erforderlich oder auf 100 Theile Kupfervitriol 226,0 Theile Seignettesalz und 64 g Natriumhydrat. Bei der Herstellung der Lösung nimmt man von dem Seignettesalz und dem Natriumhydrat der Sicherheit wegen etwas mehr als die berechnete Menge.

Da sich die fertige Lösung leicht zersetzt, oft schon von einem Tag zum anderen, so hält man sie nicht vorräthig, sondern stellt sie durch Mischen der vorher bereiteten Lösungen der einzelnen Bestandtheile erst unmittelbar vor dem Gebrauch dar. Man kann dabei so verfahren, dass man jeden der drei Bestandtheile für sich in entsprechender Concentration löst, oder den Kupfervitriol für sich und das Seignettesalz mit dem Natriumhydrat zusammen. Nach der folgenden Vorschrift sind die Lösungen einzeln zu bereiten, und zwar, da zur Herstellung der Fehling'schen Flüssigkeit von jeder Lösung dasselbe Volumen genommen werden soll, in der dreifachen Concentration.

a. Kupfervitriollösung. Man stellt von käuflichem chemisch reinen Kupfervitriol eine heiss gesättigte Lösung dar und kühlt das Filtrat unter Rühren ab. Das Krystallmehl lässt man auf einem lose verstopften Trichter unter öfterem Umstechen abtropfen und endlich auf glattem Papier oder auf einem Teller in flacher Schicht an einem trocknen Orte einige Zeit stehen. Das Salz soll genau 5 Mol. H_2O (36,087 %) Wasser enthalten und bei 100—110° genau 4 Mol. H_2O (28,87 %) verlieren. Es wird in einem gut verschlossenen Glase aufbewahrt. Zur Bereitung der Lösung wägt man einen Theil desselben genau ab, löst diesen in heissem Wasser, bringt die Lösung ohne jeden Verlust in einen Maasscylinder und füllt die Lösung mit so viel Wasser auf, dass der Liter 103,92 g Kupfervitriol enthält. Hat eine Stichprobe des Salzes einen andern Wassergehalt ergeben, so berechnet man darnach die Menge Salz, welche statt 103,92 g zu lösen ist. Die Lösung wird in einer Flasche mit Kautschukpfropfen aufgehoben.

b. Seignettesalzlösung. Diese soll im Liter 280 g (2,5 Mol. auf 1 Mol. Kupfervitriol) des Salzes enthalten. Es wird also eine Portion des Salzes abgewogen, in warmem Wasser gelöst, auf das berechnete Volumen aufgefüllt und filtrirt. Die Lösung schimmelt leicht; um dies zu verhindern, setzt man ihr etwas Phenol zu, welches die Titrirung nicht beeinträchtigt.

c. Natronlauge. Man löst so viel Natriumhydrat in Wasser, dass der Liter 120 g (nahezu 8 Mol. auf 1 Mol. Kupfervitriol) enthält, oder verwendet eine Lauge von 1,137 Dichte. Die Lösung muss vollkommen klar sein. Man filtrirt sie entweder durch Asbest oder lässt sie sich durch Stehen in verschlossner Flasche klären und hebt die klare Flüssigkeit ab.

Für die Bereitung der Fehling'schen Lösung misst man in einem Maasscylinder zuerst von der Kupfervitriollösung ein Volumen, z. B. 30 cc, genau ab, füllt dann beiläufig dasselbe Volumen Seignettesalzlösung auf (also bis 60 cc) und darauf wieder so viel Natronlauge, dass das gesammte Volumen genau das Dreifache der Kupfervitriollösung ausmacht (genau 90 cc), und schüttelt um. Man kann von der Natronlauge auch nur annähernd das verlangte Volumen zusetzen und das genaue Maass durch Zusatz von Wasser herstellen. Zu einer einzelnen Zuckerbestimmung reicht man mit 100 cc Fehling'scher Lösung knapp aus.

1 cc der Lösung zeigt 5 mg Traubenzucker $C_6H_{12}O_6$ an.

Setzt man Zweifel in die Richtigkeit einer Fehling'schen Lösung, so stellt man ihren Titer nach C. auf reinen Traubenzucker (S. 110), oder, nach Scheibler, auf Kochsalzzucker.

2. Andere Vorschriften.

a. Nach Schmiedeberg[1]) setzt man zu einer Lösung von 34,64 g Kupfervitriol in 200 cc Wasser eine Lösung von 16 g Mannit in 100 cc Wasser, 480 cc Natronlauge von 1,145 Dichte (mit 62,4 g NaHO) und füllt zum Liter auf. Sie hält sich, wenn sie von reducirender Substanz frei ist, jahrelang unverändert. Da aber der reinste Mannit des Handels oft Kupferhydrat in alkalischer Lösung reducirt, so verwendet man nur solchen zur Herstellung der Lösung, dem diese Eigenschaft abgeht. Sonst scheidet die Lösung schon beim Stehen, schneller beim Erwärmen, Kupferoxydul ab und macht eine Titerstellung auf Traubenzucker nöthig.

b. Kletzinsky, sowie Löwe haben statt des Seignettesalzes Glycerin in Vorschlag gebracht; zur Herstellung eines Liters Lösung braucht man 15—16 g syrupdickes Glycerin. — Criswell löst 35 g Kupfersulphat in 100 cc Wasser, setzt 200 g Glycerin und eine Lösung von 80 g Natriumhydrat in 400 cc Wasser zu. Die Lösung wird 15 Minuten im Sieden erhalten, weil das Glycerin manchmal reducirende Substanz enthält und dann auf 1 Liter aufgefüllt. Der Titer wird empirisch bestimmt. — Kossel[2]) löst 34,65 g Kupfervitriol, 150 g Glycerin und 130 g Kaliumhydrat zum Liter. Die Lösungen sollen haltbar sein.

C. Ausführung. Man kann die Zuckermenge nicht, wie bei reinen Zuckerlösungen, aus dem Gewicht des ausgeschiedenen Kupferoxyduls bestimmen, weil das Ammoniak, welches sich beim Erwärmen des Harns mit Fehling'scher Lösung entwickelt, immer einen Theil des Oxyduls in Lösung hält. Dieser Theil entzieht sich also der Bestimmung. Die Aufgabe des Analytikers besteht vielmehr darin, dasjenige Volumen Harn auszumitteln, welches in einem bestimmten Volumen Fehling'scher Flüssigkeit beim Kochen das Kupferoxyd geradeauf reducirt. Das Volumen der Fehling'schen Flüssigkeit betrage 10 cc. Die Bestimmung fällt richtig aus, wenn zur Reduction dieser zwischen 5 und 10 cc Zuckerlösung verbraucht werden; da der diabetische Harn in der Regel viel reicher an Zucker ist, so muss er schon darum entsprechend verdünnt werden. Durch die Verdünnung werden aber die Bestimmungen auch aus dem Grunde genauer, weil die Messungsfehler bei verdünntem Harn relativ kleiner sind, als bei unverdünntem.

Man hat der Fehling'schen Lösung die richtige Menge verdünnten Harns zugesetzt, wenn die Mischung unmittelbar nach dem Kochen gerade nicht mehr blau ist; dieses Volumen des verdünnten Harns muss auf 0,1 cc genau ausgemittelt werden. Dasjenige Harnvolumen ist also das richtige, bei welchem die Mischung nicht mehr blau ist, während 0,1 cc Harn weniger die Mischung noch blau lässt. Zur Beurtheilung der Farbe der Flüssigkeit wartet man nur so lange,

---

[1]) O. Schmiedeberg, Chem. Centralbl. 1885. 960; Archiv f. exper. Pathol. 28. 363. 1891.

[2]) Criswell, Brit. med. Journ., May 27. 1886; Virchow-Hirsch's Jahresber. 1886. 1. 158. — Kossel, Schweizer Wochenschr. f. Pharm. 29. 442; Ztschr. f. analyt. Ch. 33. 239.

bis sich aus der obersten, unter dem Meniscus befindlichen Schicht das Kupferoxydul gesenkt hat. Es ist daher Vorsorge zu treffen, dass sich das Oxydul leicht absetzt. Dies geschieht am Besten in einer stark alkalischen Flüssigkeit und man muss daher der Mischung vor dem Kochen noch etwas starke Natronlauge zusetzen; die Lauge muss klar sein, weil trübe Lauge das Absitzen des Oxyduls beträchtlich verzögert.

Zum Abmessen des verdünnten Harns sowie der Fehling'schen Flüssigkeit bedient man sich der Buretten.

Es ist nicht räthlich zu warten, bis sich eine grössere Schicht der Flüssigkeit geklärt hat; denn das von dem entwickelten Ammoniak in Lösung gehaltene Kupferoxydul oxydirt sich bei Zutritt von Luft schnell und so kann es sich ereignen, dass eine Mischung, welche unmittelbar nach dem Kochen farblos oder selbst schon, in Folge einer Zerstörung von überschüssigem Zucker durch die Lauge, schwach gelb war, nach einigem Stehen wieder deutlich blau ist. Auch nützt das längere Warten darum nichts, weil das Kölbchen weit herauf mit Kupferoxydul beschlagen ist, dieses aber im durchfallenden Licht die Complementärfarbe des Orange, Blau, durchlässt, also blau auch dann erscheinen kann, wenn die Flüssigkeit farblos ist.

Das Abfiltriren der Flüssigkeit zum Behuf der Beurtheilung der Farbe ist nicht zu empfehlen. Eine farblose Flüssigkeit fliesst durch ein Papierfilter anfangs mit gelber Farbe hindurch, weil das Papier von der heissen Lauge angegriffen wird, bald aber mit blauer Farbe, weil das in ammoniakalischer Lösung befindliche Kupferoxydul unter sehr günstigen Umständen mit Luft in Berührung kommt und sich daher beim Filtriren noch viel schneller oxydirt, als im Kölbchen.

Eine Klärung der Flüssigkeit lässt sich dadurch erzielen, dass man ihr nach Mulder einige Tropfen (concentrirte) Kalkacetat-, oder nach Munk Chlorcalciumlösung zusetzt und sie noch einmal aufkocht. Der beim Sieden entstehende gelatinöse Niederschlag von weinsaurem Kalk reisst das suspendirte Kupferoxydul mit nieder und es lässt sich dann die Farbe der Flüssigkeit mit grösserer Sicherheit erkennen. Dazu ist zu bemerken, dass auch sehr oft ein mässiger Kalkzusatz nicht zu dem gewünschten Ziele führt, ein starker aber alle Weinsäure und mit ihr das noch in Lösung befindliche Kupferoxyd niederschlagen kann. Es wäre dann die Menge des Seignettesalzes zu erhöhen. — Zu dem gleichen Zwecke hat F. Meyer[1]) den Zusatz von Chlorzinklösung vorgeschlagen, damit das beim Kochen ausfallende Zinkhydrat das suspendirte Oxydul abscheide; Zinkhydrat löst sich aber in weinsaurem Salz und die Lösung giebt beim Kochen einen feinflockigen oder feinkörnigen Niederschlag, der für diesen Zweck nicht geeignet ist.

Andererseits will Causse die Klärung durch Zusatz von Ferrocyankalium zur Fehling'schen Flüssigkeit herbeiführen; das Blutlaugensalz soll das Oxydul in Lösung halten. Der Vorschlag ist aber schon darum nicht ohne Weiteres brauchbar, weil die Fehling'sche Flüssigkeit durch das Ferrocyankalium für sich reducirt wird. Daraus erklärt sich die Beobachtung von Arthus[2]), dass der Titer der Fehling'schen Lösung durch den Zusatz von Ferrocyankalium

---

[1]) G. J. Mulder, nach Stokvis, Arch. f. klin. Med. **33**. 11. — I. Munk, Virchow's Archiv **105**. 63. 1886. — F. Meyer, Pharmac. Ztschr. f. Russland **23**. 202; Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1885. 94; Ber. d. chem. Gesellschaft **15**. Ref. 241.

[2]) H. Causse, Bull. de la soc. chim. [2] **50**. 265. 1888. — Arthus, Archives de physiol. norm. et pathol. [5] **3**. 428. 1891.

schwächer wird, um so mehr, je mehr von dem Salz in Verwendung kommt. Arthus verbrauchte auf 100 cc Fehling'scher Lösung mit

1 g	1,35	2,70	6,40 g	Ferrocyankalium,
5,1 cc	5,0	4,8	4,5 cc	derselben Zuckerlösung.

Bei Zusatz von nur 0,65 g Ferrocyankalium zu 100 cc Fehling'scher Lösung trat ein Niederschlag von Kupferoxydul auf. Will man sich dieses Klärungsmittels bedienen, so muss man Fehling'sche Lösung mit einem constanten Gehalt an Ferrocyankalium verwenden und die Zuckermenge nach dem abgeänderten Titer der Fehling'schen Lösung berechnen. Man setzt eine Ferrocyankaliumlösung von bekanntem Gehalt der Fehling'schen Flüssigkeit in jedem einzelnen Versuch zu.

Zu dem gleichen Zwecke schlägt Gerrard[1]) Cyankalium vor. Fehling-sche Lösung wird durch Cyankalium unter Bildung des Salzes $K_2Cu(CN)_4$ entfärbt. Setzt man einer solchen Flüssigkeit Fehling'sche Lösung hinzu, so wird sie blau und durch Zucker reducirt, scheidet aber kein Kupferoxydul ab. Eine zum Titriren geeignete Flüssigkeit erhält man in folgender Weise. Es werden 10 cc Fehling-scher Lösung verdünnt und siedend mit so viel 50proc. Cyankaliumlösung versetzt, bis sie gerade entfärbt oder nur noch ganz schwach blau ist und darauf mit noch 10 cc Fehling'scher Lösung versetzt. Man titrirt bis zur Entfärbung.

Das nächst liegende Reagens, das Ammoniak, ist zur Entfärbung untauglich, weil sich bei starkem Ammoniakgehalt der Titer der Fehling'schen Lösung ändert (vgl. I. 1. C. S. 773).

Eine Probe der klaren Flüssigkeit nach dem Ansäuern mit Ferrocyankalium auf noch unzersetztes Kupferoxyd zu prüfen, ist bei Harn unzulässig, weil das Kupferoxydul, welches die Flüssigkeit in ammoniakalischer Lösung enthält, bei dieser Probe gleichfalls einen braunen Niederschlag giebt.

Durch einen Vorversuch hat man zuerst zu ermitteln, wie stark der Harn zu verdünnen ist, damit man zur Reduction von 10 cc Fehling'scher Flüssigkeit zwischen 5—10 cc des verdünnten Harns verbraucht. Man kann sich dabei von der Dichte des Harns leiten lassen, insofern als concentrirter Harn in der Regel reicher an Zucker ist, als verdünnter; einen Harn von 1,030 empfiehlt es sich auf das 5fache, einen concentrirteren auf das 10fache zu verdünnen. Man misst dann 5 cc Fehling-sche Flüssigkeit in ein Kölbchen, setzt 1 cc verdünnten Harn zu, dann noch etwas starke Lauge und Wasser, so dass man ein Gesammtvolumen von ungefähr 25 cc erhält, und erhitzt zu lebhaftem Sieden. Ist die Flüssigkeit darnach noch blau, so fügt man ihr noch 1 cc verdünnten Harn zu, kocht wieder auf und fährt so fort, bis man zwei um 1 cc Harn verschiedene Proben bekommt, von welchen die eine noch, die andere nicht mehr blau ist. Wenn diese Bestimmung auch durchaus nicht richtig ausfällt, so lässt sich doch nach dem Ausfall des Versuchs der Gehalt des Harns an Zucker schätzen und die Verdünnung des Harns darnach einrichten.

Zur Ermittelung der richtigen Zuckermenge titrirt man mit 10 cc Fehling'scher Flüssigkeit, indem man ausser dem abgemessenen Volumen Harn noch etwas starke Natronlauge und so viel Wasser zusetzt, dass das

---

1) A. W. Gerrard, Journ. de pharm. et de chimie [6] 3. 250; Chem. Centralbl. 1896. 2. 135.

gesammte Volumen beiläufig 5 mal so gross ist, als das Volumen der Fehling'schen Flüssigkeit. Die im Hals des Kölbchens beim Einmessen hängen gebliebenen Tropfen Fehling'scher Flüssigkeit und Harn werden vorher in das Kölbchen abgespritzt. Das Kölbchen soll nicht grösser sein, als dass es von der gesammten Flüssigkeit nicht weniger als bis zur Hälfte gefüllt wird. Man erhitzt bis die Mischung ordentlich siedet, unterhält aber das Kochen nicht sehr lang, weil sich sonst das im Ammoniak gelöste Kupferoxydul durch den Sauerstoff der Luft wieder zu Oxyd oxydirt und dieses die übrige Flüssigkeit stärker blau erscheinen lässt, als es sonst der Fall wäre. Aus demselben Grund verschafft man sich auch so bald als möglich Aufschluss über die Farbe der Flüssigkeit, lässt sie also nach dem Kochen nicht auf der heissen Unterlage stehen, sondern nimmt das Kölbchen sogleich herab.

Jede Probe muss mit einer frischen Harnmenge angestellt werden. Setzt man zu einer bereits gekochten noch blauen Probe noch mehr Harn, so wird nach Soxhlet schon bei reinen Zuckerlösungen das Resultat falsch, beim Harn aber um so mehr, als sich Kupferoxydul wieder zu Oxyd oxydirt und dieses zuletzt auch noch reducirt werden müsste; man würde dann mehr Harn verbrauchen als für die Fehling'sche Flüssigkeit allein, und zu wenig Zucker finden. Man beginnt mit den zwei Harnvolumen, welche bei der Vorprüfung die zwei Grenzwerthe ergeben haben und zieht die Grenzen immer enger, bis man die zwei um 0,1 cc Harn verschiedenen Proben bekommen hat, von welchen die eine gerade noch blau, die andere nicht mehr blau ist. Die Farbe der überstehenden Schicht erkennt man am Besten gegen einen weissen hell beleuchteten Hintergrund (ein Blatt Papier); bei künstlichem Licht lassen sich diese Bestimmungen nicht ausführen.

Hat man alles zur Titrirung Nöthige hergerichtet, so kann man eine Bestimmung trotz der anscheinenden Umständlichkeit der Methode recht wohl in 1/2 Stunde zu Ende führen. Man erspart begreiflicher Weise sehr an Zeit, wenn man die einzelnen Flüssigkeiten nebeneinander kocht, entweder über einzelnen Flammen oder auf einem Eisenblech, einer Asbestpappe, einem Sandbad. Bei einiger Uebung kann man auch aus der Färbung der Flüssigkeit mit ziemlicher Sicherheit schätzen, um wie viel Zehntel Cubikcentimeter man noch von dem richtigen Volumen entfernt ist; man kann darnach die zwischenliegenden Volumen auslassen. — Hat man Harn eines Diabetikers, in dessen Lebensweise und sonstigen Umständen keine wesentliche Aenderung eingetreten ist, von Tag zu Tag zu analysiren, so kann man sehr wohl die Bestimmung des vorhergehenden Tages zur Richtschnur nehmen und gleich auf Zehntel Cubikcentimeter titriren.

Für die Berechnung der Zuckermenge hat man festzuhalten, dass jeder Cubikcentimeter Fehling'sche Flüssigkeit 5 mg Zucker anzeigt; in dem zur Reduction verbrauchten Volumen verdünntem Harn hat man so viel mal 5 mg Zucker gefunden, als man Cubikcentimeter Fehling'sche Flüssigkeit genommen hat; bei z. B. 10 cc Fehling-scher Flüssigkeit 0,050 g Zucker. Das Volumen unverdünnten Harn,

in welchem diese Menge Zucker enthalten ist, erfährt man, wenn man das verbrauchte Volumen verdünnten Harn durch die Zahl dividirt, welche angiebt, wie viel mal der Harn verdünnt war. Hat man 7,2 cc verdünnten Harn verbraucht, und war der Harn auf das 8fache verdünnt gewesen, so sind die 0,050 g Zucker in 0,9 cc unverdünntem Harn enthalten gewesen; es enthalten also 100 cc 5,56 g.

Schon darum, weil man aus dem mit kleinen Volumen erhobenen Befund auf grosse Volumina rechnet, die begangenen Fehler also sehr stark multiplicirt, muss man sich genauer Maassgefässe bedienen und höchst sorgfältig messen.

Die Bestimmungen fallen nicht absolut genau aus, weil auch der diabetische Harn Substanzen enthält, welche das Kupferoxyd reduciren, wie der Zucker (S. 72). Doch treten diese im diabetischen Harn so zurück, dass ihr störender Einfluss nur geringfügig ist; nur die Pentose würde, wenn sie in grosser Menge neben dem Traubenzucker vorkäme, zu unrichtigen Resultaten führen. In zuckerarmem, namentlich concentrirten Harn aber können sie das Resultat bis zu 0,5 % des Zuckergehalts des Harns falsch machen. Ein Harn, der nach dieser Titrirung nicht mehr als 0,5 % Zucker enthalten sollte, kann ganz frei von Zucker sein. Will man diesem Fehler Rechnung tragen, so lässt man nach Worm-Müller's Vorgang in dem titrirten Harn den Zucker vergähren und titrirt ihn darauf noch einmal.

Diabetischer Harn enthält selten mehr als 0,2 % Eiweiss. Der Eiweissgehalt an sich würde die Bestimmung des Zuckers nicht stören und man könnte solchen Harn ohne Weiteres zur Bestimmung verwenden; allein das Oxydul setzt sich aus der Flüssigkeit um so langsamer ab, je mehr sich der Eiweissgehalt diesem Werthe nähert. Enstehen in dieser Hinsicht Schwierigkeiten, so entfernt man vorher das Eiweiss aus demselben nach § 43. I. D. 1. S. 441 und stellt nach dem Kochen das ursprüngliche Volumen oder Gewicht des Harns wieder her.

B. Nach Gaud.

Bei der Bestimmung des Zuckers nach Fehling wird ein Theil des Zuckers durch das Alkali zersetzt und so der Oxydation durch das Kupferoxyd entzogen. Um den dadurch veranlassten Fehler zu vermeiden, muss man die Titration unter bestimmten Bedingungen, z. B. nur mit Zuckerlösungen von 0,5—1 % ausführen, wie oben angegeben. Man kann aber nach Gaud[1]) auch Zuckerlösungen von anderer Concentration titriren, wenn man eine Correctur anbringt. Als Mittel aus 400 Bestimmungen mit Lösungen von 0,1—10 % ergab sich

$$y = -1{,}00004801\,x + 0{,}02876359\,x^2,$$

1) F. Gaud, Comptes rendus **119**. 650. 1894.

worin y den Fehler als Funktion des richtigen Gehaltes x bezeichnet. Addirt man die beim Versuch gefundene Menge ϑ zu dem Werth des Fehlers und setzt die Summe = 0, so erhält man

$$0{,}02876\,x^2 - 1{,}00004801\,x + \vartheta = 0,$$
$$\vartheta = 1{,}00004801\,x - 0{,}02876\,x^2,$$

woraus sich x berechnen lässt. Bezeichnet man 1,00004801 mit a und 0,02876 mit b, so ist $x = \frac{1}{2b}\left(a \pm \sqrt{a^2 - 4\vartheta b}\right)$.

C. Mit ammoniakalischer Kupferlösung.

a. Nach Pavy.

Um bei der Beurtheilung der Endreaction nicht durch das sich ausscheidende Oxydul gestört zu werden, setzt Pavy[1]) der Fehling'schen Lösung von vornherein Ammoniakflüssigkeit zu, und zwar mischt er 120 cc Fehling'sche Lösung mit 300 Ammoniakflüssigkeit von 0,880 Dichte und füllt auf 1 *l* auf. Von dieser Mischung sollte nach ihrem Gehalt an Fehling'scher Lösung 1 cc 0,6 mg Zucker anzeigen, in Wirklichkeit zeigt sie aber nur 0,5 mg an, ist also genau 0,1 so stark wie Fehling'sche Lösung. Die ammoniakalische Lösung ist haltbar. — Setzt man nach einer späteren Mittheilung Pavy's[2]) der 10fach verdünnten Fehling'schen Lösung ausser Ammoniak auf 20 cc noch 5 g Kaliumhydrat zu, so erlangt sie den ursprünglichen Werth wieder (1 cc = 0,5 mg Zucker). Auch kann man nach Pavy[3]) die Flüssigkeit so herstellen, dass man die Lösung von 4,158 g Kupfervitriol, 20,4 g Seignettesalz, 20,4 g Kaliumhydrat und 300 cc Ammoniak-Flüssigkeit von 0,880 Dichte auf 1 *l* auffüllt; 10 cc zeigen 5 mg Zucker an.

Die Titrirung nimmt Pavy unter Luftabschluss vor, das Kölbchen, in welchem sie ausgeführt wird, fasst 80 cc und wird mit einem zweifach durchbohrten Kork verschlossen. In der einen Bohrung sitzt das Abflussrohr der Burette, in der andern ein U-rohr, das zur Absorption des entweichenden Ammoniaks mit Bimsstein und verdünnter Säure gefüllt ist. Vor dem Titriren hält man die auf das doppelte verdünnte Flüssigkeit (10 cc) einige Zeit im Kochen, damit die Luft aus dem Kölbchen verdrängt wird, und dann lässt man aus der Burette so lange den auf das 20—40 fache verdünnten Harn zufliessen, bis die Flüssigkeit gerade entfärbt ist.

Nach Hehner[4]) ist der Titer der Lösung in hohem Grade abhängig von dem Gehalt derselben an Natron oder Kali. Die Fehling'sche Flüssigkeit, welche man nach der gegebenen Vorschrift verdünnen will, muss im Liter wenigstens 120 g und darf nicht über 150 g Natriumhydrat enthalten. Dann ist ihr Titer der von Pavy angegebene. Ausserdem wird nach Hehner[5]) der Titer der Flüssigkeit noch durch die Anwesenheit selbst sehr geringer Mengen andrer Substanzen aufs Wesentlichste beeinflusst. Es sei zwar nicht unmöglich, mit der ammoniakalischen Lösung richtige Bestimmungen auszuführen, aber es sei dazu eine peinliche Einhaltung völlig gleicher Versuchsbedingungen erforderlich.

b. Nach Moritz.

Moritz[6]) verwendet eine Kupfersulphatlösung mit 80,78 g krystallisirtem Salz im Liter, 12 proc. Natronlauge und 7,1 proc. Ammoniak von 0,9722 Dichte. Man misst 5 oder 2 cc der Kupferlösung in einen Halbliterkolben und setzt 140 cc Ammoniak und ebensoviel Natronlauge, als man Kupferlösung genommen hat, hinzu. Der Kolben wird mit einem Gummipfropfen verschlossen, dessen eine Bohrung die

---

1) F. W. Pavy, Chem. Centralbl. 1879. 406; Ztschr. f. analyt. Ch. **19**. 98.
2) Pavy, Journ. of the chem. Soc. **37**. 512. 1880; Ber. d. chem. Gesellsch. **13**. 1884. 1880.
3) Pavy, The Lancet, March 1., 1884; Virchow-Hirsch's Jahresbericht 1884. **1**. 244.
4) O. Hehner, Chem. Centralbl. 1879. 406; Ztschr. f. analyt. Ch. **19**. 100.
5) Hehner, The Analyst **6**. 218; Ztschr. f. analyt. Ch. **22**. 447. 1883.
6) F. Moritz, Arch. f. klin. Medicin **46**. 221. 1890.

Burette mit dem Harn und dessen andere Bohrung einen Rückflusskühler aufnimmt. Diese Apparate sind mit dem Pfropfen mittelst Kautschukschlauch beweglich verbunden. Der Kolbeninhalt wird während der Titrirung im Sieden erhalten. Die Kupferlösungen sind so gestellt, dass sie bei 4 Min. langem Kochen durch das doppelte Volumen einer 0,5 proc. Zuckerlösung gerade reducirt werden, wenn die Zuckerlösung auf einmal zugesetzt wird. Das Ende der Reaction wird daran erkannt, dass die Flüssigkeit gerade nicht mehr blau ist. Man ermittelt zuerst durch allmählichen Zusatz des Harns, wieviel von demselben zur Entfärbung nöthig ist und wiederholt dann den Versuch, bis man diejenige Flüssigkeitsmenge ausfindig gemacht hat, welche, wenn sie auf einmal zugesetzt wird, die Entfärbung bewirkt. Der Titer ändert sich mit der Concentration der Zuckerlösung. Wenn von einer 0,5 proc. Zuckerlösung 10 cc zur Reduction von 5 cc der Kupferlösung verbraucht werden, so sind von einer 0,1 proc. Zuckerlösung nicht 50, sondern 51 cc erforderlich. Moritz hat eine Tabelle entworfen, aus welcher zu entnehmen ist, welchem Zuckergehalt des Harns das verbrauchte Volumen entspricht. Diabetischen Harn hätte man so zu verdünnen, dass er 0,5 % oder weniger Zucker enthält.

c. Nach Peška[1].

Zur Bestimmung dient eine Lösung von 0,2 der Concentration der Fehling-schen Lösung; sie wird bereitet aus gleichen Volumen (50 cc) einer Lösung von 6,927 g krystallisirtem Kupfersulphat und 160 cc 25 proc. Ammoniak in 500 cc und einer Lösung von 34,5 g Seignettesalz und 10 g Natriumhydrat in 500 cc. Die gemischten Flüssigkeiten kommen in ein Becherglas und werden mit einer 0,5 cm hohen Schicht Paraffinöl bedeckt, um die oxydirende Einwirkung der Luft abzuhalten und die Verdunstung des Ammoniaks zu verhüten, weil sich dadurch der Titer der Lösung ändert. Man hält die Temperatur der Flüssigkeit auf 80—85°, lässt in einem Vorversuch die Zuckerlösung unter Umrühren erst zu ganzen cc zufliessen und titrirt in einem zweiten Versuch auf 0,1 cc aus. Für den Ausfall der Bestimmung ist es gleichgültig, ob man die Zuckerlösung nach und nach oder auf einmal zusetzt. Bei der richtigen Zuckermenge soll die Lösung nach 2 Min. langem Erwärmen gerade entfärbt sein. Man verwendet am Besten 0,5 proc. Zuckerlösungen, keineswegs aber solche mit mehr als 1 %. Die Concentration der Zuckerlösung ist von Einfluss auf das Resultat; wenn man mit 1 proc. 80,2 mg Traubenzucker bestimmt, so findet man mit 0,5 proc. 80,6, mit 0,1 proc. 82,1 mg.

Das Reductionsvermögen des Milchzuckers beträgt bei diesem Verfahren 51,2 % von dem des Traubenzuckers.

Harn soll mit Bleiessig ausgefällt und der Ueberschuss des Bleis mit Natriumsulphat entfernt werden.

d. Nach Gaud.

Das Verfahren von Gaud[2] unterscheidet sich von den übrigen dadurch, dass die Kupferlösung kein fixes Alkali enthält, sondern nur Ammoniak. Auf Traubenzucker wirkt Ammoniak im geschlossenen Rohr erst bei 30—40 stündigem Erhitzen zersetzend ein, während er durch fixes Alkali sehr leicht zerstört wird und so der Oxydation durch die Kupferlösung entgeht. Titrirt man in rein ammoniakalischer Lösung, so ist das Resultat unabhängig von der (zwischen 0,1—10 % betragenden) Concentration der Zuckerlösung und bei 10 proc. Lösung beträgt der Fehler nur 0,1 %.

Zur Bestimmung dient eine ammoniakalische Lösung mit 34,65 g krystallisirtem Kupfersulphat im Liter. 1 cc zeigt 5 mg Zucker an; man verwendet 10 cc der Lösung und verdünnt mit dem gleichen Volumen Wasser. Die Reaction wird bei 80° vorgenommen, und während des Erwärmens leitet man (durch den durchbohrten Stopfen) einen Wasserstoffstrom durch den Kolben. (Nur erfolgt bei Abwesenheit von fixem Alkali die Reduction des Kupferoxyds sehr langsam.)

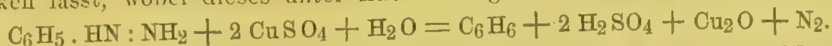
[1] Z. Peska, Ztschr. f. Zuckerindustrie in Böhmen **29**. 372; Ztschr. f. analyt. Ch. **35**. 93; Chem. Centralbl. 1895. **1**. 1044; 1896. **1**. 138.

[2] F. Gaud, Comptes rendus **119**. 650. 1894; Allein u. Gaud, Journ. de pharm. et de chimie **30**. 305; Chem. Centralbl. 1894. **2**. 818.

D. Nach Riegler.

Riegler[1]) bestimmt die Menge des Zuckers aus dem Verbrauch an Fehling'scher Lösung, wenn der Zucker mit einem Ueberschuss an derselben behandelt wird.

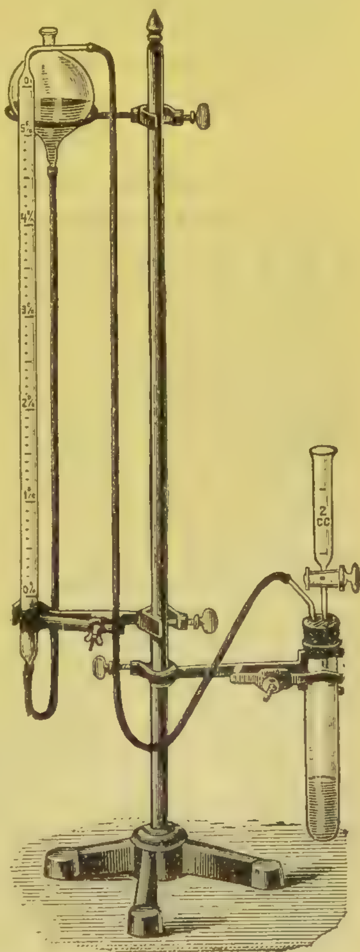
Die Menge der vor und nach der Titrirung vorhandenen Fehling'schen Lösung erfährt man dadurch, dass man salzsaures Phenylhydrazin auf dieselbe einwirken lässt, wobei dieses unter Entwicklung von Stickstoff zersetzt wird nach



$$C_6H_5 . HN : NH_2 + 2\, CuSO_4 + H_2O = C_6H_6 + 2\, H_2SO_4 + Cu_2O + N_2.$$

Beide Bestimmungen liefern ungleich viel Stickstoff. Um die Menge des Zuckers zu erfahren, rechnet man die bei der zweiten Bestimmung fehlenden cc Stickstoff in Gramme um und multiplicirt den erhaltenen Werth mit 2,6. Zur Zersetzung von 10 cc Fehling'scher Flüssigkeit braucht man ungefähr 2 cc einer 10 proc. Lösung von salzsaurem Phenylhydrazin. Der entwickelte Stickstoff wird in einem Knop-Wagner'schen Azotometer aufgefangen und gemessen. Die Bestimmung der Menge Stickstoff, welche ein bestimmtes Volumen ungebrauchter Fehling-scher Lösung entwickelt, braucht man nur ein für allemal auszuführen, die nach der Zersetzung des Zuckers aber ist in jedem einzelnen Versuch vorzunehmen.

Fig. 54.



Später hat Riegler[2]) an Stelle des Azotometers einen Apparat vorgeschlagen, an welchem die Zuckermenge in Procenten abgelesen werden kann. Er besteht wie das Azotometer aus einem Rohr zur Aufnahme und zum Messen des entwickelten Stickstoffs und einer mit dem Messrohr an den unteren Enden durch einen Kautschukschlauch verbundenen, an entgegengesetzten Seiten offenen Kugel, welche ermöglicht, durch Heben oder Senken das Flüssigkeitsniveau in beiden Theilen des Apparates gleich hoch stellen zu können. Als Sperrflüssigkeit dient Wasser. Am oberen Ende ist das Messrohr mit dem Gasentwickelungsgefäss durch einen Kautschukschlauch in Verbindung gesetzt. Das Entwickelungsgefäss besteht aus einem 20 cm langen und 2 cm weitem Glasrohr mit einem doppelt durchbohrten Kautschukstopfen. In der einen Bohrung sitzt ein Glasrohr, welches die Verbindung mit dem Messrohr herstellt, die andere Bohrung trägt ein cylindrisches Trichterrohr, das mit einem Glashahn und an dem weiteren Theil mit zwei, den Raum von 2 cc umfassenden Marken versehen ist.

Bei der Ausführung der Analyse kommen in das Entwickelungsgefäss 10 cc Fehling-sche Lösung mit genau der 10 cc entsprechenden Menge Kupfersulphat und 1 cc Harn, wenn die Dichte des Harns weniger als 1,030. Harn von einer Dichte von 1,030 – 1,040 wird mit dem gleichen, solcher von mehr als 1,040 mit dem doppelten

[1]) E. Riegler, Wiener med. Blätter 1896. 451; Ztschr. f. analyt. Ch. **35** 31; Chem. Centralbl. 1896. **2**. 602.

[2]) Riegler, Apothekerzeitung **12**. 168; Chem. Centralbl. 1897. **1**. 774.

Volumen Wasser verdünnt und von dem verdünnten Harn gleichfalls nur 1 cc verwendet. Man kocht die Mischung auf, verschliesst das Glas bei offenem Hahn des Trichterrohrs mit dem Kautschukstopfen, lässt es 15 Min. lang in Wasser von Zimmertemperatur stehen und stellt das Wasser im Messrohr durch Heben der Kugel auf 0 ein. Man schliesst darauf den Hahn, befestigt das Rohr im Halter und lässt aus dem Trichterrohr die durch die Marken bestimmten 2 cc einer 10 proc. Lösung von salzsaurem Phenylhydrazin zufliessen; dann senkt man die Kugel und schüttelt das Reagensrohr in Pausen von 5 Minuten 3 Mal 1 Min. lang. Zuletzt lässt man das Rohr 10 Minuten wieder in Wasser von Zimmertemperatur verweilen, bringt die Flüssigkeit im Messrohr und in der Kugel auf gleiche Höhe und liest ab. Das unter dem Hahn befindliche Stück des Trichterrohrs darf keine Flüssigkeit enthalten. Die abgelesene Zahl gilt für unverdünnten Harn; war er verdünnt, so ist die Zahl mit dem Maass der Verdünnung zu multipliciren. Das Messrohr ist für 15^0 C. geaicht. Für klinische Zwecke bedarf es nur bei bedeutender Abweichung der Zimmertemperatur von 15^0 einer Correctur. Nach $(5-p)$ $(t-15)$ 0,003665, wo t die Zimmertemperatur angiebt, erhält man die Zahl, welche den abgelesenen Procenten zuzuzählen ist.

Der Apparat wird geliefert von P. Altmann, Berlin N. W. Luisenstr. 52.

E. Nach Knapp[1]).

Die Methode beruht darauf, dass Quecksilbercyanid in alkalischer Lösung durch Traubenzucker zu metallischem Quecksilber reducirt wird (§ 6. I. B. 5. e. S. 106).

Die Knapp'sche Lösung soll im Liter 10 g chemisch reines, im Vacuum getrocknetes Quecksilbercyanid und 100 cc Natronlauge von 1,145 Dichte (13,3 g NaHO) enthalten. Auch kann man 10,754 g reines trockenes Quecksilberchlorid mit so viel käuflichem Cyankalium versetzen, dass Natronlauge keinen Niederschlag mehr giebt, 100 cc Natronlauge von 1,145 Dichte zufügen und auf 1 *l* auffüllen. Der Titer der Lösung ist nach Soxhlet[2]) abhängig vom Gehalt derselben an Alkali, insofern als eine Steigerung des Alkaligehalts den Titer erhöht. Man hat, wie bei der Fehling'schen Methode, auch hier Harn von 0,5—1,0% Zucker zu verwenden und von demselben auf einmal so viel zuzusetzen, dass die Flüssigkeit nach dem Kochen gerade kein Quecksilbersalz mehr enthält. Um das erforderliche Volumen Harn zu finden, hat man, nach einem Vorversuch, welcher lehren soll, wie stark der Harn zu verdünnen ist, eine Reihe von Proben vorzunehmen, bei welchen immer das ganze Volumen Harn auf einmal zugesetzt wird, bis man zwei um 0,1 cc verdünnten Harn unterschiedene Proben erhalten hat, von welchen die eine noch Quecksilberoxyd enthält, die andere keins mehr. Als wahren Werth nimmt man das Mittel aus beiden Volumen an. Es ist dabei nicht gleichgiltig, in welcher Weise die Flüssigkeit auf noch vorhandenes Quecksilbercyanid untersucht wird; die Resultate fallen anders aus, wenn man die Probe mit Schwefelammon nimmt (Knapp), oder nach dem Ansäuern der Probe mit Schwefelwasserstoff (Lenssen, Pillitz), oder mit alkalischer Zinnoxydullösung (Brumme). Prüft man mit Zinnoxydul, so ergiebt sich nach Soxhlet's sorgfältigen Bestimmungen, dass 100 cc Knapp'sche Lösung von 0,200—0,202 g wasserfreiem Traubenzucker reducirt werden; der Cubikcentimeter Knapp'sche Flüssigkeit zeigt also 2 mg Traubenzucker an.

Die alkalische Zinnoxydullösung erhält man durch Lösen von 50 g käuflichem Zinnchlorür in Natronlauge und Verdünnen zum Liter. Dieselbe oxydirt sich beim Stehen leicht höher und wird dadurch bald unbrauchbar; nach Zusatz von metallischem Zinn (Folie) lässt sich die Lösung in einem verschlossenen Gefäss

---

1) K. Knapp, Ann. d. Chem. u. Pharm. **154**. 252.
2) Soxhlet, Journ. f. prakt. Ch. [2] **21**. 300.

aufbewahren. Man nimmt die Probe in der Weise, dass man von der Mischung nachdem sie 1—2 Minuten gekocht hat, mit einem Glasstab einen Tropfen auf eine weisse Porzellanplatte oder auf eine Glastafel mit weisser Unterlage bringt und in sie aus einer Pipette einen Tropfen der Zinnoxydullösung fallen lässt. Enthält die Mischung noch Quecksilbercyanid, so färbt sich der Tropfen grau. Enthält der aus der Mischung genommene Tropfen Quecksilber suspendirt, so ist er bereits grau; in solchem Falle setzt man neben diesem einen zweiten Tropfen für die Reaction und vergleicht darnach beide.

Verdünnt man die Knapp'sche Flüssigkeit auf das Dreifache und lässt eine 0,05—1% Zucker enthaltende Lösung nach und nach zufliessen, so zeigt der Cubikcentimeter der Knapp'schen Flüssigkeit nach Worm-Müller und Hagen, sowie nach Otto[1]) 2,5 mg Zucker an. Nach dem Zusatz jeder neuen Menge Zuckerlösung erhält man ½—1 Minute in gelindem Sieden. Man prüft die Flüssigkeit zuerst nach Pillitz auf überschüssiges Quecksilber, indem man einen angesäuerten Tropfen derselben der Einwirkung von Schwefelwasserstoffgas aussetzt, später, wenn so keine Reaction mehr eintritt, durch Prüfen des Filtrats nach dem Ansäuern mit Essigsäure mit Schwefelwasserstoff direkt.

Die Bestimmungen des Zuckers im Harn fallen, wie bei der Fehling'schen Methode, nicht ganz genau aus, weil der Harn Substanzen enthält, welche die Quecksilberlösung für sich reduciren; diese müssten nach dem Vergähren des Zuckers für sich bestimmt und in Abzug gebracht worden.

F. Nach Sachsse[2]).

Bei der Sachsse'schen Probe dient eine mit Kalilauge versetzte Lösung von Quecksilberjodid in Jodkalium zu der Bestimmung.

Die Lösung soll im Liter 18 g Quecksilberjodid enthalten, welches mit Hilfe von 25 g Jodkalium in Lösung gebracht wird, und 10 g Kaliumhydrat. Eine Steigerung des Kaligehalts bis auf 80 g im Liter hat keinen Einfluss auf den Titer, dagegen aber die Concentration der Zuckerlösung; nach Soxhlet sind zur Reduction von 100 cc Sachsse'scher Lösung (mit 80 g Kaliumhydrat im Liter) 0,325 g Traubenzucker in 0,5 proc. Lösung und 0,330 g in 1 proc. Lösung erforderlich. Die Methode liefert bei der Bestimmung des Zuckers im Harn ebensowenig ganz genaue Resultate, wie die Fehling'sche und die Knapp'sche.

Das Quecksilberjodid bereitet man sich durch Fällen einer Lösung von Quecksilberchlorid mit Jodkalium (auf 13,5 g Quecksilberchlorid 16,6 g Jodkalium), Auswaschen des Niederschlags bis zum Verschwinden der Chlorreaction und Trocknen bei 100°. Man kann auch die Quecksilberjodidlösung direkt aus 10,7444 g reinem trocknem Quecksilberchlorid pro Liter und der nöthigen Menge Jodkalium herstellen. Die Endreaction nimmt man, wie bei E. angegeben, mit alkalischer Zinnoxydullösung vor, welche mit Spuren Sachsse'scher Lösung noch einen braunen Niederschlag giebt. Im Uebrigen wird die Titirung so angestellt, wie beim Knapp'schen Verfahren nach Soxhlet.

Will man eine Lösung haben, welche, wie die Fehling'sche Lösung, mit dem Cubikcentimeter 5 mg Zucker anzeigt, so hat man 27,5 g Quecksilberjodid 38 g Jodkalium und 15,15 g Kaliumhydrat zum Liter zu lösen.

Es versteht sich von selbst, dass man den Titer der Knapp'schen, sowie der Sachsse'schen Flüssigkeit auch auf eine Traubenzuckerlösung stellen kann. Der Zucker muss aber dann absolut rein sein.

---

[1]) Worm-Müller u. J. Hagen, Pflüger's Archiv **16**. 569. 1878; **23**. 220. 1880. — Worm-Müller, Journ. f. prakt. Ch. [2] **26**. 85. 1882. — Jac. G. Otto, das. 98.

[2]) R. Sachsse, Die Chemie und Physiologie der Farbstoffe, Kohlenhydrate und Proteinsubstanzen. Leipzig 1877. 213; Chem. Centralblatt 1877. 471. — Brumme, Chem. Centralbl. 1876. 520. — Heinrich, Chem. Centralbl. 1878. 409. — Soxhlet, a. a. O. 308.

2. Bestimmung durch Polarisation.

Princip und Methode (§ 55. S. 667).

1. Der Bestimmung des Traubenzuckers durch die Polarisation liegt die specifische Drehung desselben zu Grunde, die Zahl, welche angiebt, um welchen Winkel eine 1 Decimeter dicke Schicht Traubenzuckerlösung die Ebene des polarisirten Lichts nach rechts ablenkt, wenn die Lösung in 100 g 1 g Zucker enthielte und die Drehung 100 mal so stark wäre, als die beobachtete. Sie beträgt für den Traubenzucker 52,5° (S. 95). Dieser Werth ist aber für die Lösungen verschiedener Concentration nicht derselbe, sondern er nimmt mit der Concentration zu, aber wie S. 679 ausgeführt ist, in so geringem Grade, dass man für die Bestimmung des Zuckers im Harn die spec. Drehung als constant annehmen darf. Man kann in dem Fall also eine Drehung von 52,5° = 100 g Zucker in 100 g rechnen, eine Drehung von $1^0 = \frac{100}{52,5}$ g Zucker in 100 g, wenn im 1-Decimeterrohre beobachtet wurde. Beim Harn darf man erfahrungsgemäss ohne irgend erheblichen Fehler 100 g gleich 100 cc setzen. Die Beobachtungsrohre haben eine Länge von 1, 2 und 3 Decimeter. Nimmt man die Beobachtung in einem Rohre von anderer Länge, als dem von 1 Decimeter vor, so hat man den abgelesenen Winkel oder die berechnete Zuckermenge noch durch die Länge des Rohres zu dividiren.

Bei den Saccharimetern, welche auf Zuckerprocente geaicht sind, kommt diese Berechnung selbstverständlich nicht zur Anwendung.

Um das Beobachtungsrohr zu füllen, legt man auf das eine Ende desselben eine der Glasplatten, darauf einen Ring aus weichem Leder und schraubt die Metallkappe darüber. Dann giesst man das Rohr so weit mit Harn voll, dass die Flüssigkeit über dem Rohr hervorsteht, schiebt von der Seite her die zweite Glasplatte darüber, damit im Rohr keine Luftblasen eingeschlossen werden, und schliesst das obere Ende, wie vorher das untere. Die Glasplatten dürfen nicht zu scharf angepresst werden (S. 677).

2. Der Harn muss vor Allem **klar** sein, da trübe Harne mehr Licht wegnehmen und die Bestimmung in höherem Grade unsicher machen, als selbst sehr dunkle Harne. Häufig gelingt es nicht, den Harn durch Filtriren so vollständig zu klären, als es wünschenswerth und nöthig ist. In solchen Fällen gelangt man zum Ziele, wenn man den Harn mit Bleizuckerlösung fällt und das Filtrat verwendet.

Der Bleizucker fällt auch aus Harn keinen Zucker, wie ich mich bestimmt überzeugt habe; mit Bleizucker ausgefällter Harn dreht, die Verdünnung eingerechnet, noch genau so stark als vorher. 10 cc Bleizuckerlösung mit 25 g krystallisirtem Salz in 100 cc auf 50—90 cc Harn genügen auf alle Fälle. Man misst ein bestimmtes Volumen Harn in einem Maasscylinder ab (z. B. 50 cc) und fällt mit Bleizuckerlösung bis zu der gewählten Marke (z. B. bis 60 cc) auf; lässt man die Bleilösung vorsichtig zufliessen, so bleibt über der mit Niederschlag erfüllten

Flüssigkeit eine klare Schicht stehen, welche die Einstellung der Oberfläche auf die Marke mit Berücksichtigung des Meniscus noch zulässt. Dann schüttelt man gut um und filtrirt. Geht die Flüssigkeit anfangs trüb durch's Filter, so giesst man sie nochmals auf. — Bei der Berechnung hat man auf die durch die Bleilösung bewirkte Verdünnung Rücksicht zu nehmen; hat man z. B. 50 cc Harn 10 cc der Bleilösung zugesetzt, so hat man den gefundenen Werth mit $^6/_5 = 1{,}2$ zu multipliciren.

Stark gefärbte Harne liefern keine so genauen Resultate wie schwach gefärbte, aber selbst sehr dunkle Harne lassen sich durch Bleizuckerlösung so vom grössten Theil ihres Farbstoffs befreien, dass sie zur polarimetrischen Bestimmung völlig geeignet werden.

Die Entfärbung durch Digestion mit Kohle ist dagegen nicht zu empfehlen, weil sie viel mehr Zeit in Anspruch nimmt und weil die Kohle Zucker zurückhält.

4. Die Bestimmung fällt nur dann richtig aus, wenn der Harn neben dem (rechtsdrehenden) Traubenzucker keine linksdrehende Substanz enthält. Als solche kommen in Betracht Eiweiss, Levulose, Laiose, β-Oxybuttersäure und gepaarte Glykuronsäuren.

Von der Gegenwart oder der Abwesenheit von Eiweiss überzeugt man sich leicht durch die Kochprobe oder durch die Prüfung mit Ferrocyankalium und Essigsäure. Ist Eiweiss vorhanden, so lässt es sich nach § 43. I. D. 1. S. 441, bis auf Spuren, auf welche Nichts mehr ankommt, entfernen. Hat man dem Harn die richtige saure Reaction ertheilt, so coagulirt man das Eiweiss in einer abgemessenen oder gewogenen Menge durch Erhitzen und stellt vor dem Filtriren und nach dem Erkalten der Probe das ursprüngliche Volumen oder Gewicht durch Zusatz von Wasser wieder her. — Nach van Ketel[1]) lässt sich das Eiweiss auch gut entfernen durch Zusatz einer Mischung von 4 cc Phenol liquefactum und 10—15 cc 10 proc. Bleizuckerlösung zu 50 cc Harn.

Linksdrehender Zucker lässt sich, nach Ausschluss andrer linksdrehender Substanz, nur durch gleichzeitige Polarisation und Titrirung nach Fehling finden. Ergiebt die Titrirung, ausserhalb der Fehlergrenzen der Methoden, mehr Zucker als die Polarisation, so ist die Gegenwart einer Levulose wahrscheinlich.

β-Oxybuttersäure, sowie die gepaarten Glykuronsäuren, einschliesslich der linksdrehenden Substanz des normalen Harns, ergeben sich als vorhanden, wenn der Harn nach der Gährung links dreht. Man lässt den Harn unter Befolgung der S. 108 angegebenen Regeln vergähren und klärt ihn mit Bleizucker (2). Auch linksdrehender Zucker vergährt im Harn. Durch diese Gährung lässt sich auch der Fehler eliminiren, welchen die zwei letztgenannten Substanzen in die polarimetrische Bestimmung einführen. Kommt die linksdrehende Substanz nicht in grösserer Menge im diabetischen Harn vor, als im normalen, so ist sie für die Bestimmung des Zuckers nur in zuckerarmen Harnen von Bedeutung.

5. Bei Abwesenheit von linksdrehender Substanz erhält man, wie mir mehrfache eigene Erfahrungen ergeben haben, bei Einhaltung der gegebenen Regeln durch Polarisation und durch Titriren (nach Fehling) innerhalb der Fehlergrenzen der Methoden übereinstimmende Resultate. Die nach beiden Methoden erhaltenen Werthe brauchen Abweichungen

[1]) B. A. van Ketel, Ztschr. f. physiol. Ch. 22. 278. 1896.

in der zweiten Decimale nicht zu überschreiten, und sehr gute Uebereinstimmung zwischen Titrirung und Polarisation erhält man nach Mörner[1]), wenn man den Harn vor und nach der Gährung untersucht.

3. Bestimmung durch Gährung.

a. Aus dem Unterschied der Dichte vor und nach der Gährung.

Roberts[2]) hat vorgeschlagen, den Zucker im Harn in der Weise zu bestimmen, dass man die Dichte des Harns vor und nach vollständiger Vergährung des Zuckers durch Hefe ermittelt und die Differenz der Dichten mit einem empirischen Factor multiplicirt, welcher sich ergiebt, wenn man die in anderer Weise gefundene Zuckermenge durch die Dichtedifferenz dividirt.

Das Verfahren ist später von Smoler, von Manasseïn, von Worm-Müller und Hagen u. A. einer weiteren Prüfung unterzogen, sowie von Antweiler und Breitenbend[3]) abgeändert worden.

Der Harn wird nach Worm-Müller auf 200 cc mit 0,75—1 g gut ausgewaschener, an der Luft getrockneter Hefe bei 20—25^0 unter lockerem Verschluss stehen gelassen, worauf bei Anwesenheit von wenig Zucker der Zucker in 24 Stunden, bei viel Zucker in 48 Stunden verzehrt ist. In der Wärme vergährt der Zucker schneller, am Schnellsten bei 34^0 (S. 108). Man lässt den Harn so lang mit der Hefe in Berührung, bis eine Probe alkalische Kupferlösung nicht mehr reducirt und filtrirt dann oder lässt stehen, bis die Hefe sich abgesetzt hat. Vor der Bestimmung der Dichte darf man den Harn nicht stehen lassen, weil er von selbst in Gährung gerathen kann.

Antweiler und Breitenbend setzen dem Harn zur Beschleunigung der Gährung, wohl überflüssiger Weise, Nährsalze zu und zwar je 2 g Seignettesalz und (zweifach saures) phosphorsaures Kali auf 100 cc, worauf die Gährung nach Hinzufügen von 10 g Presshefe auf 100 cc Harn bei 30 - 34^0 in Gegenwart von nur wenig Zucker in 2—3 Stunden zu Ende geht. Vor dem Filtriren wird die suspendirte Hefe durch Erzeugung eines Niederschlags von chromsaurem Blei im Harn abgeschieden. Es werden zu diesem Zwecke dem Harn auf 100 cc 10 cc einer kalt gesättigten Lösung von neutralem chromsauren Kali und 10 cc einer Lösung von essigsaurem Blei von solcher Concentration zugesetzt, dass die Chromsäure geradeauf gefällt wird. Eigentlich sollte die Portion Harn, welche zur Bestimmung der Dichte vor der Gährung dienen soll, gleichfalls mit Nährsalz versetzt und gleichfalls mit dem Chromat ausgefällt werden, weil die Dichte des ursprünglichen Harns dabei eine Erhöhung erfährt; man kann aber diese Probe unterlassen und dafür der Dichte des nativen Harns 0,0178 hinzuzählen. Nimmt man die Abscheidung der Hefe durch Bleichromat nicht vor, so hat man für die Dichtezunahme durch die Nährsalze der Dichte des ursprünglichen Harns 0,022 zu addiren.

---

1) K. A. H. Mörner, Hygiea, Festband 1889; Jahresbericht f. Thierch. 1889. 224.

2) W. Roberts, Edinburgh med. Journ., October 1861. 326; The Lancet I. 21. 1862.

3) Smoler, Archiv f. wissensch. Heilk. 1864. 256. — W. Manasseïn, Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1872. 551; Archiv f. klin. Med. **10**. 72. 1877. — Worm-Müller und J. Hagen, Pflüger's Archiv **33**. 211. 1884. — Worm-Müller, das. **37**. 479. 1885. — Antweiler und P. Breitenbend, das. **28**. 179. 1882.

Am Sichersten bestimmt man die Dichten mit dem Pyknometer; eine Verwendung von Aräometern ist nur dann zulässig, wenn sie die Dichte bis auf die 4. Decimale angeben und wenn sie geaicht sind (§ 54. 1. S. 661). Gekaufte Aräometer sind oft unrichtig. Lohnstein bedient sich des von ihm angegebenen Aräometers. Die beiden mit einander verglichenen Harne müssen bei der Dichtebestimmung dieselbe Temperatur haben.

Man findet, wie viel Gramm Zucker der Harn in 100 cc enthält, wenn man die Dichtedifferenz mit dem Faktor multiplicirt. Zur Auffindung des Faktors bestimmten Roberts den Zuckergehalt des Harns durch Titriren nach Fehling, Manasseïn durch Polarisation mit dem Ventzke-Soleil'schen Saccharimeter, Worm-Müller durch Titriren des Harns vor und nach der Gährung nach Knapp, Antweiler und Breitenbend durch Titriren blos des zuckerhaltigen Harns nach Knapp. Nach Roberts ist der Faktor = 230, nach Manassein = 219, nach Antweiler und Breitenbend = 263 mit Abscheidung der Hefe, und 218 ohne diese. Worm-Müller findet den Faktor von Roberts verwendbar bei einem Zuckergehalt des Harns über 0,4—0,5%, und Mörner sowie Guttmann[1]) gelangten unter Verwendung des Aräometers mit demselben gleichfalls zu befriedigenden Resultaten.

Die grosse Verschiedenheit der Faktoren unter einander hat nicht blos ihren Grund in der Verschiedenheit der zu ihrer Auffindung verwendeten Methoden, sondern wie Budde zweifellos dargethan hat, auch in dem Umstand, dass die Grösse des Faktors abhängig ist von der Dichte des Harns vor und von der Dichte des Harns nach der Gährung. Der Faktor ist demnach für jeden einzelnen Fall ein anderer. Lohnstein[2]) hat ein Verfahren angegeben, womit man den wahren Faktor für jeden einzelnen Fall berechnen kann. Es ergab sich dabei, dass der Faktor bei einem Zuckergehalt des Harns von 0—10%, einer Dichte des zuckerfreien Harns von 1,01—1,03 und bei der Temperatur von 15—25° zwischen 223—244 schwankt. Rechnet man in allen Fällen mit dem Faktor 234, wobei der Harn für die Ermittelung seiner Dichte nach der Gährung nicht filtrirt wird, so macht man bei der Bestimmung des Zuckers im schlimmsten Fall einen Fehler von 5%.

Schütz[3]) ermittelt die Dichteabnahme mit einem nach Art der Nicholson'schen Senkwage eingerichteten offenen Aräometer, einer ungefähr 100 cc fassenden langhalsigen Flasche (Aräo-saccharimeter), in welcher der Harn zur Vergährung gebracht wird. Man beschwert das mit dem Harn und der Hefe beschickte Aräometer, bis es zum Nullpunkt der an der Spindel angebrachten Skala im Wasser eintaucht; durch die bei der Gährung entwickelte Kohlensäure wird das Aräometer leichter und steigt in dem Wasser auf. Wenn nach 24—36 Stunden die Gährung zu Ende ist, liest man an der empirisch getheilten Skala die Zuckerprocente ab. Bei einem Zuckergehalt von nur 0,2% wird noch ein schwaches Steigen des Aräometers wahrgenommen. Das Aräometer kann auch zur Bestimmung der Dichte benutzt werden. Es wird angefertigt von Chr. Kob & Co. in Stützerbach, Thüringen.

b. Aus der Menge des gebildeten Alkohols.

Antweiler und Breitenbend[4]) ermittelten den Alkoholgehalt des vergohrenen Harns mit dem Vaporimeter und berechneten aus ihm die Zuckermenge. Die Resultate stimmten mit der Titrirung des Zuckers nach Knapp überein.

---

[1]) K. A. H. Mörner, Hygiea, Festband 1889; Jahresber. f. Thierch. 1889. 224. — P. Guttmann, Deutsche med. Wochenschr. **16**. 9. 1890.

[2]) V. Budde, Ugeskrift for Laeger [4] **9**. 375. 1884; Pflüger's Archiv **40**. 137. 1887; Ztschr. f. physiol. Ch. **13**. 326. 1889. — Th. Lohnstein, Pflüger's Archiv **62**. 82. 1895. — Berliner klin. Wochenschr. 6. 1896.

[3]) J. Schütz, Münchener med. Wochenschr. 1891. 681; 1892. 621.

[4]) Antweiler u. Breitenbend, a. a. O.

c. Aus der Menge der gebildeten Kohlensäure.

Nach der gründlichen Untersuchung von Jodlbauer (S. 108) lässt sich die Selbstgährung der Hefe nur dann verhüten, wenn die Menge der verwendeten Hefe in einem bestimmten Verhältniss zu der des Zuckers steht; bei einem andren Verhältniss entstehen aus derselben Menge Zucker verschiedene Mengen Kohlensäure. Die Bestimmung des Zuckers aus der entstandenen Kohlensäure ist also höchst unsicher. Gréhant u. Quinquaud lassen daher Hefe für sich vergähren und ziehen die dabei gebildete Menge Kohlensäure von der bei der Gährung des Zuckers erzeugten ab. — Hedin[1] hat zu dem Versuch Hefe verwendet, die so oft gewaschen worden war, bis sie aus einer bekannten Menge Zucker die geringste Menge Kohlensäure entwickelte und hat dann in 10 Bestimmungen Werthe erhalten, welche von den durch Titriren nach Fehling gewonnenen im Mittel um 0,12 % (0,01—0,27) abwichen.

Einhorn lässt den Harn in einem empirisch geaichten, an einem Ende zugeschmolzenen U-Rohr (Gährungssaccharimeter) bei Zimmertemperatur gähren und bestimmt die Menge des Zuckers aus dem Volumen der entwickelten Kohlensäure. Guttmann ist bei diesem Verfahren zu ganz unbefriedigenden Resultaten gelangt. — Fleischer[2]) sperrt die gährende Flüssigkeit durch Quecksilber ab, das durch die entwickelte Kohlensäure in einem seitlich angebrachten engen Rohr in die Höhe getrieben wird. Die Menge der entwickelten Kohlensäure wird nach der Höhe der Quecksilbersäule bestimmt. In einem zweiten solchen Apparat wird eine gleiche Menge Hefe mit etwas Zucker in Gährung versetzt und die dabei gebildete Menge Kohlensäure von der aus dem diabetischen Harn entstandenen abgezogen.

4. Colorimetrische Bestimmung nach G. Johnson.

Johnson[3]) benutzt die rothe Farbe der beim Kochen von Traubenzucker mit Kalium- oder Natriumhydrat und Pikrinsäure entstehenden Pikraminsäure zur Bestimmung des Zuckers. Da sich die aus Pikrinsäure und einer bestimmten Menge Traubenzucker hergestellte Vergleichslösung nicht lange hält, so wird die Farbe derselben mit Hilfe einer Lösung von essigsaurem Eisenoxyd, Eisenchlorid und etwas Essigsäure nachgeahmt. Einen von Johnson für diese Bestimmung zusammengestellten Apparat nennt derselbe Pikrosaccharimeter.

II. Bestimmung der gesammten Kohlenhydrate.

A. Princip. Das Verfahren besteht darin, diejenige Verdünnung des Harns zu ermitteln, bei welcher ein Tropfen der Flüssigkeit die Furfurolfärbung mit α-Naphtol in genau solcher Stärke giebt, wie eine Traubenzuckerlösung von bekannter Concentration. Der verdünnte Harn enthält dann so viel furfurolliefernde Substanz, als die zum Vergleich verwendete Zuckerlösung. Um den Gehalt des unverdünnten Harns an solcher Substanz zu ermitteln, hat man die Concentration der Zuckerlösung mit derjenigen Zahl zu multipliciren, welche angiebt, wie stark man den Harn hat verdünnen müssen.

---

1) Gréhant u. Quinquaud, Comptes rendus **106**. 609. u. 1249. 1888. — S. G. Hedin, Lunds Universitets årsskrift **27**; Jahresber. f. Thierch. 1891. 37.

2) M. Einhorn, New-York med. Record. Jan. 1887. 91; Deutsche med. Wochenschr. 1888. 620. — P. Guttmann, Deutsche med. Wochenschr. **16**. 7. 1890. — Fleischer, Med.-chirurg. Rundschau 1887. 743; Chem. Centralbl. 1888. 62.

3) G. Johnson, Pharm. Journ. and Transact. [3] **13**. 1015. 1883; Jahresber. f. Chemie 1883. 1649.

Zur Vergleichsprobe kann man entweder, wie v. Udránszky sowie Luther, eine Zuckerlösung von so geringer Concentration wählen, dass sie die Reaction gerade noch giebt, oder, wie Treupel[1]) eine Zuckerlösung von grösserem, aber bekannten Procentgehalt an Zucker.

B. Ausführung. Den für die Anstellung der Proben (S. 68) gegebenen Vorschriften ist noch Folgendes hinzuzufügen:

1. Bestimmung nach der Empfindlichkeitsgrenze. Der Harn wird systematisch mit 1,2, . . . Vol. Wasser verdünnt und von jeder Verdünnung mit einem Tropfen (1 Tropfen Naphtollösung, 0,5 cc Wasser und 1 cc Schwefelsäure) die Probe hergestellt, bei welcher die Färbung der gemischten Flüssigkeit (gegen einen weissen Hintergrund) gerade noch sichtbar ist. Hat man bereits einige Erfahrung, so kann man, wie Luther, die Probe zuerst mit unverdünntem Harn anstellen und nach dem Ausfall derselben die nothwendige Verdünnung bemessen; man erspart sich so das lange Suchen. Ausserdem ist ein für alle Mal die Empfindlichkeitsgrenze mit einer Zuckerlösung von bekanntem Gehalt zu ermitteln; sie fällt nach der Art, wie die Probe angestellt wird, und nach der Farbenempfindlichkeit des beobachtenden Auges verschieden aus. Zu diesem Zwecke stellt man ebensolche Proben mit verdünnten Zuckerlösungen an. Luther, sowie Treupel fanden diese Grenze bei 0,01—0,02 $^0/_0$, v. Udránszky bei 0,05 $^0/_0$. Trotzdem können, wie die von Luther und von v. Udránszky ausgeführten Bestimmungen (S. 63) ergeben, die von demselben Beobachter erhaltenen Resultate gleich ausfallen, weil die Vergleichsprobe und die Harnprobe unter gleichen Bedingungen ausgeführt werden. Luther empfiehlt übrigens, jedesmal zu Anfang einer Untersuchungsreihe nebenher Bestimmungen nach 2 auszuführen.

2. Bestimmung nach Zuckerlösungen mit beliebigem, aber bekannten Gehalt. Man stellt sich nach Luther, sowie nach Treupel immer um 0,01 $^0/_0$ verschiedene Lösungen mit 0,01 bis 0,1 $^0/_0$ Zucker her, verwendet je einen Tropfen für die Probe und schüttelt, wenn der violette Ring zum Vorschein gekommen ist, kräftig um. In gleicher Weise verfährt man mit immer neuen Verdünnungen des Harns, bis man eine Harnprobe erhalten hat, deren Mischfarbe genau oder möglichst genau mit der Mischfarbe einer der Zuckerlösungen übereinstimmt. Die zu den Proben verwendeten Zuckerlösungen müssen neutral reagiren und die Proben müssen mit derselben Schwefel-

[1]) v. Udránszky, Berichte der naturf. Gesellschaft zu Freiburg i. B. **4**. 197. — E. Luther, Ueber das Vorkommen von Kohlenhydraten im normalen Harn. Freiburger Dissert. Berlin 1890. 13. — G. Treupel, Zeitschr. f. physiol. Ch. **12**. 54. 1891.

säure angestellt werden, wie die Harnprobe. Die Vergleichsproben sind immer frisch zu bereiten und dürfen den nächsten Tag nicht mehr benutzt werden.

Für beide Verfahrungsweisen ist noch Folgendes zu beachten.

Die Tropfen müssen gleich gross sein. Verschiedene Tropfenzähler geben ungleich grosse Tropfen. Auch mit demselben Tropfenzähler schwankt die Grösse der Tropfen, je nachdem man ihn mehr senkrecht oder mehr horizontal hält. Luther[1]) fand für das Rohr des Tropfenzählers diejenige Lage für die geeignetste, bei welcher es mit der Senkrechten einen Winkel von 30—40° bildet. Er gebrauchte Pipetten, welche etwa 20 Tropfen auf 1 cc geben. — Die Tropfen müssen direkt auf den Boden des Reagensglases fallen und dürfen nicht an der Wand herabfliessen.

Eine ungleiche Menge Naphtol bewirkt eine verschiedene Farbe der Mischung. Es soll also nur ein Tropfen Naphtollösung und mit diesem dieselbe Menge Naphtol zugesetzt werden. Das ist schwer mit einer Chloroformlösung zu erreichen, wegen der geringen Adhäsion des Chloroforms am Glase; auch verdunstet das Chloroform zu schnell an der Spitze des Tropfenzählers. Es ist also eine Lösung in acetonfreiem Methylalkohol vorzuziehen (Treupel).

Da es für den Ausfall der Färbung von Wichtigkeit ist, dass sich die Mischung bis zu dem gleichen Grade erwärmt, so darf man nicht blos ungefähr 0,5 cc Wasser und 1 cc Schwefelsäure zusetzen, sondern abgemessene Mengen, was man nach Treupel mit dem Tropfenzähler in genügender Genauigkeit erreicht.

Vor Anstellung der Untersuchung ist mit den Reagentien ein blinder Versuch auszuführen, um sich zu versichern, dass diese nicht schon für sich die Probe geben (Treupel).

Für die Bestimmung der Kohlenhydratmenge ist eiweissfreier oder enteiweisster Harn zu verwenden. Hat man Harn vergähren lassen, so ist er zu filtriren, weil der hefehaltige Harn zu grosse Werthe giebt (Luther). Die gleiche Vorsicht hat man bei faulem Harn zu beobachten; der an Bacterien reiche Bodensatz giebt nach Treupel[2]) eine viel stärkere Reaction, als der filtrirte Harn. — Verdünnen des Harns ist nach Roos[3]) ohne Einfluss auf das Resultat. — Zur Controle kann die spectroskopische Untersuchung vorgenommen werden.

Bei Anwendung dieses Verfahrens auf die Bestimmung des Gehalts reiner Zuckerlösungen erhielt Luther[4]) Werthe, welche mit den durch Polarisation und Titrirung gewonnenen gut übereinstimmten. Mit normalem Harn hergestellte Zuckerlösungen ergaben so viel Zucker mehr, als dem Gehalt des zur Lösung verwendeten Harns an Kohlenhydrat entsprach. Demgemäss wurde auch bei der Untersuchung von diabetischen Harnen (mit 3,4—4,3 % Zucker) durch die Furfurolprobe 0,1—0,3 % Zucker mehr gefunden, als durch Polarisiren oder Titriren oder durch die Gährung nach Roberts.

---

[1]) Luther, a. a. O. 7.
[2]) Treupel, a. a. O. 65.
[3]) E. Roos, Ztschr. f. physiol. Ch. **15**. 519. 1892.
[4]) Luther, a. a. O. 14.

§ 66. Bestimmung der Phenole.

1. Des Phenols und Parakresols zusammen, nach Kossel und Penny[1]).

A. Princip. Bei der quantitativen Bestimmung des Phenols handelt es sich um die flüchtigen Phenole (Phenol und Parakresol, § 7. I. u. II. S. 148 u. 155) überhaupt und nicht blos um das eigentliche Phenol. Das Verfahren beruht darauf, dass nach den Ermittelungen von Kossel und Penny unter bestimmten Bedingungen durch Hypojodit das Phenol in Trijodphenol, das Kresol in Trijodkresol übergeführt wird. Zur Bildung des Trijodphenols sind auf 1 Mol. Phenol mehr als 3 Mol. Hypojodit und 3 Mol. freies Jod und zur Bildung von Trijodkresol mehr als 7 Mol. Hypojodit und 10,75 Mol. freies Jod erforderlich, oder 1 cc 0,1 normal Jodlösung auf 3 mg Phenol oder 1 mg Parakresol, und die nöthige Menge Lauge. Die Reaction vollzieht sich langsam in der Kälte. Die Phenole werden in verdünnter Natronlauge gelöst und die erwärmte Flüssigkeit mit der nach der Menge Lauge berechneten Menge Jod versetzt. Dann wird angesäuert, wobei wie § 63. I. 1. A. S. 761 dargethan, alles zur Bildung des Produkts nicht verbrauchte Jod frei wird, und dieses mit Natriumthiosulphat zurücktitrirt.

B. Erfordernisse.

1. Zehntelnormal-Jodlösung. Von dieser zeigt 1 cc 1,567 mg Phenol oder 1,8018 mg Kresol an.

2. Eine auf die Jodlösung gestellte Natriumthiosulphatlösung. Beide wie § 63. I. 1. B. S. 762.

3. Nitritfreie Zehntelnormal-Natronlauge.

4. Stärkelösung.

C. Ausführung.

Die Phenole werden aus dem mit Schwefelsäure angesäuerten Harn abdestillirt. Dabei können ausserdem in das Destillat übergehen Aceton, Ameisensäure und salpetrige Säure, von welchen Aceton und Ameisensäure Jod binden, die salpetrige Säure aus Jodkalium Jod frei macht. Ferner können flüchtige aldehydartige Substanzen, welche gleichfalls Jod binden, nach Salkowski und Ken Taniguti[2]) entstehen, wenn der Harn mit der Schwefelsäure stark eingedampft wird. Das Ammoniak, welches beim Kochen normalen Harns entweicht, wird zurückgehalten, wenn der Harn mit einer genügenden Menge Schwefelsäure versetzt worden ist. Die durch die fremden Substanzen verursachten

---

[1]) A. Kossel u. E. Penny, Ztschr. f. physiol. Ch. **17**. 117. 1892.

[2]) Ken Taniguti, Ztschr. f. physiol. Ch. **14**. 476. 1890. — Salkowski. Pflüger's Archiv **56**. 339. 1894.

Fehler lassen sich aber vermeiden, wenn man zur Gewinnung der Phenole aus dem Harn in folgender Weise verfährt.

Man dampft 500 cc Harn bei schwach alkalischer Reaction auf dem Wasserbad auf ein Fünftel ein, wobei das Aceton entweicht. Den Rückstand bringt man durch Zusatz von Wasser wieder auf das ursprüngliche Volumen, setzt auf 100 cc 5 cc concentrirte Schwefelsäure zu und destillirt die Hälfte ab. Man ersetzt die abdestillirte Flüssigkeit durch Wasser und wiederholt die Destillation noch einige Male immer unter Ergänzung des ursprünglichen Volumens. Die Vorlagen können während der Destillation offen sein, ohne dass man Phenol verliert. Die ersten 2 oder 3 Destillate fängt man zusammen auf, die folgenden jedes für sich. Man kann nicht durch Reactionen erfahren, ob man schon alles Phenol abdestillirt hat, weil diese nicht empfindlich genug sind, sondern erfährt das erst durch die quantitative Bestimmung. Die Ameisensäure und die salpetrige Säure entfernt man durch Schütteln der Destillate mit kohlensaurem Kalk bis zum Verschwinden der sauren Reaction. Die Flüssigkeit destillirt man vom Kalkcarbonat ab und verwendet das bei der ersten Portion rückständige Salz zum Neutralisiren der folgenden. Das Destillat wird jetzt in Flaschen mit eingeriebenen Stopfen aufgefangen.

Die Destillate werden mit einer abgemessenen Menge der Zehntelnormallauge stark alkalisch gemacht (wozu für das erste Destillat aus normalem Harn 20 cc genügen), durch Eintauchen in Wasser von 60° erwärmt und sogleich mit 10—15 cc mehr Zehntelnormal-Jodlösung versetzt, als man Lauge genommen hat. Nach dem Erkalten spült man das sublimirte Jod mit der Flüssigkeit von der Wand der Flasche ab, säuert an und titrirt das übrig gebliebene Jod mit der Thiosulphatlösung zurück, in der Art, wie bei der Bestimmung des Acetons S. 764.

Die Flüssigkeit enthält die jodirten Phenole als rothen Niederschlag, erscheint also bei gleichzeitiger Gegenwart von Jodstärke violett. Der Farbenumschlag von Violett in Roth, der mit der Wegnahme der letzten Spur freien Jods eintritt, ist aber scharf zu erkennen.

2. Bestimmung des Phenols und des Parakresols neben einander.

Eine Trennung dieser Phenole lässt sich nach Baumann auf die Unlöslichkeit des basischen parakresolsulfosauren Baryts gründen (§ 7. II. C. S. 157).

3. Bestimmung des Brenzkatechins und des Hydrochinons.

Dieselbe ist nur durch Darstellung dieser Phenole in reinem Zustand und Wägen derselben nach § 7. III. und IV. ausführbar.

§ 67. Bestimmung des Indoxyls (Indicans).

A. Princip. Die im Harn enthaltene Indoxylschwefelsäure wird durch concentrirte Salzsäure in ihre Bestandtheile zerlegt, das dabei entstandene Indoxyl nach dem Verfahren von Obermayer (§ 7. V. D. 2. S. 166) durch Eisenchlorid oxydirt und das gebildete Indigblau der Flüssigkeit durch Chloroform entzogen. Es gestalten sich darnach nicht blos die Bestimmungsweisen des Indicans viel einfacher, als früher, wo man das Indoxyl mit Chlorkalk oxydirte, die Bestimmung kann auch genauer ausfallen, weil man die zwei möglichen, der Verwendung des Chlorkalks zur Oxydation des Indoxyls anhaftenden Fehler vermeidet, die Oxydation unvollendet zu lassen oder sie zu weit zu treiben. Durch wiederholtes Ausschütteln der Flüssigkeit mit Chloroform hat man dafür Sorge zu tragen, dass alles Indigblau in das Lösungsmittel übergeführt wird.

1. Durch Wägen.

Dazu hätte man die Chloroformlösung in einer gewogenen Schale oder in einem Trockengläschen (Fig. 47. S. 699) bei einer Temperatur unter dem Siedepunkt des Chloroforms ($61{,}2^0$) zu verdunsten, den Rückstand bei 100^0 zu trocknen und nach dem Erkalten zu wägen.

2. Colorimetrisch.

Die gewonnene Lösung wird, wie Krauss und Adrian[1]) gethan haben, mit einer Lösung von reinem Indigblau in Chloroform, deren Gehalt an Farbstoff durch Abdampfen und Wägen bestimmt worden ist, in planparallelen Gläsern gegen einen weissen Hintergrund verglichen und die stärker gefärbte Lösung bis zur Farbenintensität der anderen verdünnt. Man erfährt so die Concentration der aus dem Harn dargestellten Lösung.

Das zum Vergleich dienende Indigblau muss durch Behandeln mit Alkohol oder Aether vom beigemengten Indigroth befreit werden.

3. Spectrophotometrisch nach F. Müller[2]).

Die Chloroformauszüge werden auf ein rundes Volumen gebracht und ihr Gehalt an Indigo spectophotometrisch bestimmt (§ 56. S. 692). Der sensible Spectralbezirk liegt in C 52 D — C 95 D. Zur Berechnung der Concentration (Gramm Substanz im Cubikcentimeter) nach $c = A\varepsilon$ ist die Kenntniss des Absorptionsverhältnisses, der Constanten A, erforderlich. Diese bestimmte Müller mit ganz reinem krystallinischen Indigo zu 0,0000194.

---

[1]) E. Krauss, Ztschr. f. physiol. Ch. **18**. 172. 1893. — C. Adrian, daselbst **19**. 126. 1894.

[2]) Fr. Müller, Mittheilungen aus der medicin. Klinik zu Würzburg **2**. 344. 1886.

§ 68. Bestimmung der Oxalsäure.

Eine befriedigende Methode zur Bestimmung der Oxalsäure ist nicht bekannt. Man hat sich bisher der von Neubauer (§ 15. C. b. S. 206) angegebenen bedient, nach welcher die Oxalsäure mit Phosphorsäure zusammen als Kalksalze gefällt, und diese beiden durch Essigsäure getrennt werden. Das Calciumoxalat ist aber sowohl in der Essigsäure, als auch in dem entstehenden zweifach sauren Phosphat nicht unlöslich und wenn diese Löslichkeit absolut auch nicht gross ist, so fällt sie doch bei den geringen Mengen Oxalsäure, welche im Harn vorkommen, sehr ins Gewicht. Dem Harn zugesetzte Oxalsäure findet man jedoch nahezu vollständig wieder.

Das Neubauer'sche Verfahren, welches ich in Ermangelung eines besseren beschreibe, hat durch Fürbringer, sowie durch Czapek[1]) einige zweckmässige Abänderungen erfahren.

Man nimmt möglichst grosse Mengen Harn (die Tagesmenge) in Arbeit, versetzt denselben mit Chlorcalcium und Ammoniak und darauf wieder bis zur schwach sauren Reaction mit Essigsäure, alsdann aber noch mit etwas alkoholischer Thymollösung, weil sich in dem Harn sonst so viel Bakterien entwickeln, dass das Filtriren ausserordentlich erschwert sein kann (Fürbringer). Den auf einem Filter gesammelten Niederschlag legt man sammt Filter in verdünnte Salzsäure, erwärmt nöthigenfalls, filtrirt die Lösung ab und wäscht mit Wasser bis zum Verschwinden der sauren Reaction nach (Czapek). Das Filtrat dampft man auf ein kleines Volumen ein und übersättigt heiss erst mit Ammoniak, dann mit Essigsäure und lässt einige Stunden in der Wärme stehen. Der Niederschlag wird auf einem sogen. aschefreien Filter, dessen Aschegehalt bekannt ist, mit heissem Wasser chlorfrei gewaschen. Befindet sich neben dem Kalkoxalat auf dem Filter phosphorsaurer Kalk, was leicht geschehen kann, so geht auch dieser in Lösung, was man daran erkennt, dass sich der mit salpetersaurem Silber im Filtrat erzeugte Niederschlag in Salpetersäure theilweise und endlich ganz löst. Man spritzt dann das Filter ein paar Mal mit verdünnter Essigsäure ab und wäscht vollends mit Wasser nach. Das Filter wird getrocknet, im Platintiegel verbrannt und der Tiegel im Gebläse bis zur Gewichtsconstanz geglüht; in der Regel reicht ein einmaliges Glühen von 20 Minuten langer Dauer aus, um den kohlensauren Kalk in Aetzkalk zu verwandeln. Von dem Gewicht des Aetzkalks wird das Gewicht der Filterasche abgezogen. Ist der Aetzkalk röthlich, enthält er also Eisenoxyd, so löst man den Kalk in warmer, verdünnter Essigsäure, filtrirt das Eisenoxyd durch ein kleines Filter ab, wäscht aus, verbrennt das Filter und wägt den Glührückstand; sein Gewicht ist gleichfalls von dem des Aetzkalkes abzuziehen. Die gefundene Menge Aetzkalk giebt, mit 1,6071 multiplicirt, die Menge der Oxalsäure ($C_2H_2O_4$). — Man kann den Kalk auch als Sulphat (S. 747) oder titrimetrisch bestimmen (ebenda).

Dem Harn zugesetzte Oxalsäure hat Czapek nach diesem Verfahren bis auf einen Verlust von 2,5 % im Mittel wiedergefunden.

§ 69. Bestimmung der Hippursäure.

1. Bunge u. Schmiedeberg bestimmten die Hippursäure im Harn nach dem § 21. C. 2. a. S. 226 angegebenen Verfahren. Man verwendet 100—200 cc Harn. Die gewonnene Hippursäure lässt sich

---

[1]) P. Fürbringer, Archiv f. klin. Med. 18. 154. 1876. — F. Czapek, Prager Ztschr. f. Heilkunde 2. 350. 1881.

nach dem Trocknen gleich in dem Schälchen wägen, in welchem sie auskrystallisirt ist.

Bei Versuchen mit Lösungen reiner Hippursäure fanden Bunge und Schmiedeberg bei 5maligem Ausschütteln der Flüssigkeit mit Essigäther 97,4 % wieder. v. Schröder[1]) erhielt stets gut unter einander übereinstimmende Resultate und fand von der einem Hammel beigebrachten Benzoësäure 94,2 und 99,6 % als Hippursäure wieder.

2. Jaarsveld und Stokvis kürzen das Verfahren von Bunge und Schmiedeberg insofern ab, als sie den Essigätherauszug des Harns, nachdem aus ihm mittelst Petroläther die präformirte Benzoësäure entfernt ist, in 10 bis 20 cc starker Natronlauge lösen, die Lösung $^1/_4$—$^1/_2$ Stunde kochen, mit Salzsäure ansäuern und der Lösung die aus der Hippursäure gebildete Benzoësäure mit Petroläther entziehen. Nachdem der Petroläther bei gewöhnlicher Temperatur verdunstet ist, wird der Rückstand mit Wasser gewaschen, über Schwefelsäure getrocknet und gewogen. 100 Benzoësäure sind gleich 146,7 Hippursäure. — Van de Velde und Stokvis[2]) erlitten nach diesem Verfahren Verluste bis 12 % der angewandten Substanz.

3. Völker verwendete das § 21. C. 2. d. S. 227 beschriebene Verfahren zur quantitativen Bestimmung der Hippursäure. Die auf einem trockenen gewogenen (Glaswoll-) Filter gesammelten Krystalle werden mit einigen Tropfen Wasser und Aether gewaschen und für je 1 cc Filtrat der gewogenen Hippursäure 1,5 mg hinzugerechnet. Die Resultate sind sehr befriedigend.

4. Cazeneuve empfiehlt die von ihm beschriebene Methode der Hippursäuregewinnung aus Harn (§ 21. C. 2. c. S. 227) auch zur quantitativen Bestimmung, aber ohne den Nachweis ihrer Verwendbarkeit.

§ 70. Bestimmung der Homogentisinsäure.

Das von Baumann[3]) angegebene Verfahren beruht darauf, dass die Homogentisinsäure Silberoxyd in ammoniakalischer Lösung reducirt. Es wird das Reductionsvermögen des Harns für 0,1 normale Silbernitratlösung ermittelt; 1 cc derselben zeigt 4,124 mg Homogentisinsäure an. Bei gleichzeitiger Gegenwart von Uroleucinsäure wird die Summe der beiden Alkaptonsäuren als Homogentisinsäure berechnet.

Es werden in einem Kölbchen 10 cc Harn mit 10 cc 3 proc. Ammoniak und um der Oxydation der Homogentisinsäure durch den Sauerstoff der Luft vorzubeugen, sofort mit einigen cc 0.1 normaler Silbernitratlösung versetzt, umgeschüttelt und 5 Minuten stehen gelassen. Damit das suspendirte Silber nicht mit in das Filtrat übergeht, wird in der Flüssigkeit durch Zusatz von 5 Tropfen 10 proc. Chlorcalciumlösung und 10 Tropfen Ammoncarbonat ein Niederschlag von Calciumcarbonat erzeugt. Giebt das Filtrat mit der Silberlösung noch einen starken Niederschlag, so setzt man zu einer neuen Probe Harn 2—3 mal so viel Silber-

---

1) W. v. Schröder, Ztschr. f. physiol. Chem. **3**. 323.; Ztschr. f. analyt. Chem. **19**. 252.

2) G. J. Jaarsveld u. B. J. Stokvis, Archiv f. exper. Pathol. **10**. 271. 1879; Ztschr. f. analyt. Chem. **19**. 250. — A. van de Velde, Archiv f. exper. Pathol. **17**. 190. 1883.

3) E. Baumann, Ztschr. f. physiol. Chem. **16**. 268. 1891.

lösung als zur ersten Probe. Hat man auf diese Weise die erforderliche Silbermenge annähernd ermittelt, so prüft man das Filtrat durch Ansäuern mit verdünnter Salzsäure auf überschüssiges Silber; richtig ist die Bestimmung dann, wenn dabei eine eben nur sichtbare Chlorsilbertrübung eintritt. Bei 4—6 maliger Wiederholung des Versuchs kann dieser Punkt scharf getroffen werden. Das Erkennen des Chlorsilbers wird nach Embden[1]) dadurch erleichtert, dass das tiefbraune alkalische Filtrat auf Zusatz von Salzsäure eine lichtrothe Färbung annimmt, sobald man der Endreaction nahe gekommen (keine oder nur wenig unoxydirte Säure noch vorhanden ist). Sind mehr als 8 cc Silberlösung erforderlich, so müssen auf 10 cc Harn 20 cc des 3 proc. Ammoniaks zugesetzt werden. (Vergleiche § 71.)

Das Ammoniak darf nicht stärker als 3 proc. sein, weil wegen der Löslichkeit des Chlorsilbers im Chlorammon die Endreaction unsicher wird; seine Concentration darf aber auch nicht unter 2,5 sinken. — Für normalen Harn sind nach Mörner[2]) wegen der Fällbarkeit der Harnsäure durch ammoniakalische Silberlösung auf 10 cc von der verbrauchten Silberlösung 0.3 cc abzuziehen; beim Alkaptonharn ist diese Correctur wegen seines geringen Gehaltes an Harnsäure jedoch nicht nöthig.

§ 71. Bestimmung der Gallussäure.

Die Bestimmung der Gallussäure nach C. Th. Mörner[2]) hat dieselbe Grundlage und wird in derselben Weise ausgeführt, wie die Bestimmung der Homogentisinsäure. In einzelnen Punkten ist Mörner jedoch von der für diese gegebenen Vorschrift abgewichen. Je nach dem Gehalt des Harns an Gallussäure sind 10—50 cc in Arbeit zu nehmen. Nach dem Zusatz der Silberlösung blieben die Proben 10 Minuten in dem verschlossenen Kölbchen stehen. Es wurde immer nur auf überschüssiges Silber geprüft. Nach einigen zur Orientirung über die erforderliche Silbermenge nöthigen Proben wurde eine Reihe von Proben mit je 0.2 cc Silberlösung mehr angestellt. Aus den zwei nebeneinander liegenden Proben, von welchen die eine die Endreaction gab, die nächste wieder nicht, wurde das Mittel gezogen. 3 cc Zehntelnormal-Silberlösung zeigen 10 mg. Gallussäure an.

§ 72. Bestimmung der Kynurensäure.

Capaldi[3]) hat nach folgenden Methoden untersucht, wieviel von 0,05—0,12 g Kynurensäure, welche 100 cc Hundeharn in ammoniakalischer Lösung zugesetzt worden war, wiedergefunden wurde.

Bei 1—2 b war der Harn frei von Kynurensäure, bei 3 wurde die schon vorhandene Kynurensäure nach 2 a und 3 bestimmt.

1. Verfahren von Schmiedeberg und Schultzen (§ 24. VI. C. b. S. 253).

2 a. Eine Abänderung des Verfahrens von Jaffé (C. d.). Der eingedampfte Harn wurde so oft mit heissem Alkohol ausgezogen, bis das Filtrat farblos ablief. Der Alkohol wurde verdunstet, der Rückstand in ungefähr 30 cc Wasser gelöst, mit 4 % Salzsäure versetzt und 24 St. stehen gelassen.

2 b. Die nach 2 a abgeschiedene Kynurensäure wurde in Ammoniak gelöst und wieder mit Salzsäure gefällt.

Die bei 1—2 b erhaltenen Niederschläge wurden nach 24 St. nach einander mit Wasser, Schwefelkohlenstoff und Aether gewaschen, getrocknet und gewogen. Die Säure war immer gefärbt.

---

1) H. Embden, daselbst **18**. 309. 1893.
2) C. Th. Mörner, daselbst **16**. 257.
3) A. Capaldi, Ztschr. f. physiol. Ch. **23**. 92. 1897.

3. Eignes Verfahren. Der Harn wurde mit dem halben Volumen einer mit 5 % Ammoniak versetzten 10 proc. Chlorbaryumlösung vermischt, das Filtrat auf ungefähr 30 cc eingedampft, mit 4 % Salzsäure versetzt, der Niederschlag nach 16—24 St. abfiltrirt, mit 1 proc. Salzsäure gewaschen, in ein Becherglas gespritzt und in Ammoniak gelöst. Die Lösung wurde auf dem Wasserbad vom freien Ammoniak befreit, filtrirt und wieder mit 4 % Salzsäure versetzt. Nach etwa 6 St. wurde der nun weisse Niederschlag mit 1 proc. Salzsäure und zwei Mal mit Wasser gewaschen, bei 100° getrocknet und gewogen.

Nach 1 wurde von der zugesetzten Kynurensäure im Mittel 94,5 %, nach 2a 104,5 %, nach 2b 96,45 %, nach 3 mit dem kynurensäurehaltigen Harn 96,8 % und nach 2a 101,1 %, wiedergefunden. Solomin[1]) fand nach dem Verfahren von Capaldi von 0,210 g Kynurensäure, welche 480 cc Harn zugesetzt worden waren, 0,2079 g (99 %) wieder.

§ 73. Bestimmung des Kohlenstoffs auf nassem Wege.

Princip. Organische Substanzen werden durch ein Gemisch von Kaliumpyrochromat und Schwefelsäure in der Weise zersetzt, dass sich der grössere Theil des Kohlenstoffs als Kohlensäure, der Rest als Kohlenoxyd entwickelt (Cross u. Bevan). Da die gebildete Kohlensäure in Alkalihydrat oder Erdalkalihydrat aufgefangen und so bestimmt werden soll, so würde der als Kohlenoxyd auftretende Kohlenstoff der Bestimmung entgehen. Deshalb muss das Kohlenoxyd noch zu Kohlensäure oxydirt werden, und dies geschieht dadurch, dass man es durch glühendes Kupferoxyd leitet (Widmer). Der Stickstoff der organischen Substanz wird in Ammoniak verwandelt (Krüger[2]) und dieses von der überschüssigen Schwefelsäure gebunden, der Schwefel wird zu Schwefelsäure oxydirt, Halogenverbindungen geben aber das Halogen als solches ab (aus Kochsalz entwickelt sich Chlor). Da dieses auch von Alkalihydrat (Erdalkalihydrat) gebunden werden und sein Gewicht vermehren (oder bei der titrimetrischen Bestimmung die Alkalescenz vermindern) würde, so befreit man das Gasgemisch von ihm, indem man es durch glühendes Bleichromat leitet. Die gebildete Kohlensäure kann gewogen oder titrirt werden. Bestimmt man sie durch Wägen, so muss das in den Absorptionsapparat tretende Gas vorher getrocknet werden, weil der Wasserdampf das Gewicht des Absorptionsmittels vermehrt.

Verwendet man nativen Harn zu dem Versuch, so bestimmt man zugleich mit der durch Oxydation gebildeten Kohlensäure auch die im Harn bereits als solche enthaltene; die Menge dieser macht im Mittel ungefähr 1—2 % der bei der Oxydation entstehenden aus und dieser Fehler kann vernachlässigt werden.

---

[1]) P. Solomin, daselbst 23. 498.

[2]) C. F. Cross u. E. J. Bevan, Journ. of the chem. Soc. 53. 889; Ztschr. f. analyt. Ch. 29. 80. — J. Wildner, Ztschr. f. analyt. Ch. 29. 162. 1890. — M. Krüger, Berichte der chem. Gesellsch. 27. 609.

Wollte man die bereits vorhandene Kohlensäure austreiben, so müsste man den Harn mit wenig Salzsäure oder Schwefelsäure versetzen (1 cc 1/10 normale auf 50 cc Harn, § 61. H. 3. S. 735) und evacuiren.

Das Verfahren erfordert grosse Geschicklichkeit und Sorgfalt und befriedigt auch dann nicht die Ansprüche, welche man an eine gute Analyse zu stellen berechtigt ist. Bei der Verbrennung von (chemisch reinem) Traubenzucker in Gegenwart von 5 cc 1 proc. Kochsalzlösung habe ich in den günstigsten Fällen nur 98,8 % der berechneten Kohlensäure erhalten. Die vielen Verbindungen und der grosse schädliche Raum des Apparates sind Umstände, welche die Genauigkeit des Resultats beeinträchtigen können. Gewisse, flüchtige Substanzen, wie die Benzoësäure, entgehen der Verbrennung. Da nun die Oxydation mit der Chromsäuremischung keine vollständige ist und man zur Vervollständigung derselben doch noch ein Verfahren wie bei der Elementaranalyse zu Hilfe nehmen muss, so empfiehlt es sich, den Harn gleich der Elementaranalyse zu unterwerfen; das Verfahren wird dabei einfacher und das Resultat genauer; an Zeit wird bei der Bestimmung auf nassem Wege auch Nichts erspart. Der Harn wäre auf gepulvertem Bleichromat einzutrocknen und dieser Rückstand so zu behandeln, wie es für die Verbrennung von chlor- und stickstoffhaltiger Substanz erforderlich ist.

Zur Bestimmung des Kohlenstoffs in organischen Verbindungen wurde das Verfahren zuerst von Brunner angewandt, später von Messinger[1]) wieder angeregt und von ihm und Anderen in eine geeignete Form gebracht.

I. Bestimmung durch Wägen.

A. Erfordernisse.

1. Concentrirte, von organischer Substanz freie Schwefelsäure. Im Handel kommt manchmal ganz farblose Schwefelsäure vor, welche beim Erwärmen mit frisch geschmolzenem Kaliumpyrochromat Kohlensäure entwickelt; Thiele und Marais[2]) erhielten so aus 50 cc solcher Schwefelsäure 0,18 g Kohlensäure. Man prüft sie in dem unten beschriebenen Apparat wie bei der Kohlensäurebestimmung, leitet aber das Gas, nachdem es durch die Schwefelsäure gegangen ist, in klares Barytwasser. Dasselbe befindet sich in einem U-Rohr, dessen einer Schenkel an den Entwickelungsapparat angefügt und dessen anderes Ende luftdicht mit einem, Stückchen Kaliumhydrat enthaltenden, Rohr verbunden ist. Das Kalirohr soll das Eindringen von Kohlensäure aus der Atmosphäre verhindern. Entwickelt sich Kohlensäure, so entsteht in dem Barytwasser ein weisser, in Salzsäure löslicher Niederschlag. Steht keine reine Schwefelsäure zur Verfügung, so kann man die unreine durch Erhitzen mit etwas pyrochromsaurem Kali brauchbar machen.

2. Kaliumpyrochromat. Es wird, zur Zerstörung etwa in ihm enthaltener organischer Substanz, geschmolzen, dann gepulvert.

3. Geglühter, mit Schwefelsäure getränkter Bimsstein. Erbsgrosse Stücke Bimsstein werden mit concentrirter Schwefelsäure übergossen, mittelst

---

1) E. Brunner, Poggendorf's Annalen **95**. 379; Jahresber. f. Chemie 1855. 773. — J. Messinger, Berichte d. chem. Gesellsch. **21**. 2910. 1888; **23**. 2756.

2) J. Thiele u. J. T. Marais, Ann. d. Chemie **273**. 151. 1893.

der Luftpumpe evacuirt, bis sich aus ihm keine Luft mehr entwickelt. Dann lässt man die Schwefelsäure in einem bedeckten Trichter abtropfen und füllt mit dem Bimsstein ein 20 cm hohes U-Rohr an.

4. Chromsaures Blei, in hanfkorngrossen Stücken und gekörntes Kupferoxyd zum Füllen des Verbrennungsrohrs, in welchem das Gas vom Chlor befreit und das Kohlenoxyd oxydirt werden soll. Das käufliche Bleichromat enthält fast immer organische Substanz und liefert daher beim Glühen für sich Kohlensäure. Um es für die Kohlenstoffbestimmung tauglich zu machen, genügt das blose Schmelzen desselben keineswegs; es muss vielmehr nach Ritthausen[1]) gepulvert in einem Verbrennungsrohr so lang im Sauerstoffstrom geglüht werden, bis in einem Peligot'schen Rohr vorgelegtes, vor dem Zutritt der atmosphärischen Kohlensäure geschütztes, Barytwasser nicht mehr getrübt wird.

Das zur Oxydation des Kohlenoxyds verwendete Rohr soll 36 cm lang sein; 8 cm an beiden Enden bleiben leer, die mittleren 20 cm nehmen zu gleichen Theilen das Chromat und das Kupferoxyd auf. Diese Substanzen werden durch Rollen von Kupferdrahtnetz in ihrer Lage fest-, und durch eine Scheibe von Kupferdrahtnetz getrennt gehalten. Die Rollen müssen so dick sein, dass sie sich nicht zu leicht im Rohr verschieben lassen. Beim Füllen klopft man das senkrecht gehaltene Rohr sanft auf, damit sich das Füllmaterial gut zusammensetzt. In das das Chromat enthaltende Ende des Rohrs kommt ein gut passender, weich gepresster Kork mit einem kurzen Glasrohr; das andere Ende soll bei dem Versuch ein Chlorcalciumrohr (5) aufnehmen.

Jedesmal, wenn ein Rohr neu beschickt worden ist, muss durch das bereits reine Chromat und das Kupferoxyd bei dunkler Rothgluth längere Zeit ein langsamer Strom Sauerstoff geleitet werden, um den Substanzen etwa anhaftende organische Substanz zu zerstören und um, wenn das Kupferoxyd schon gebraucht war, das reducirte Kupfer wieder zu oxydiren. Ein solches Rohr hält, wenn es zwischen den Analysen erkaltet ist, selten mehr als zwei Verbrennungen aus, ohne zu springen. Das Bleichromat kann nur einige Mal gebraucht werden, weil man dann nicht mehr sicher ist, dass es das Chlor vollständig bindet.

Das Verbrennungsrohr soll an beiden Seiten 4 cm aus dem Ofen herausragen, damit die Korke nicht anbrennen. Der gewöhnliche Verbrennungsofen ist zu lang, der Kopfer'sche zu kurz. Der Ofen muss überdem so eingerichtet sein, dass das Rohr nicht blos von unten, durch die Flammen, sondern auch von oben durch die von der Decke ausstrahlende Wärme erhitzt wird. Einen zweckentsprechenden Ofen, der von Kaehler & Martini, Berlin S. W. Wilhelmstr. 50 bezogen werden kann, hat Fritsch[2]) angegeben. Man kann übrigens auch einen gewöhnlichen Verbrennungsofen verwenden, entweder unter Benutzung eines Verbrennungsrohrs von entsprechender Länge, oder eines kürzeren, in welches man mittelst Kork ein über den Ofen hinausreichendes enges Glasrohr eingesetzt hat; der leere Theil des Rohrs wird bei der Verbrennung nicht erhitzt.

5. Neutrales poröses Chlorcalcium. Es dient dazu, aus dem Verbrennungsrohr entweichendes Wasser aufzunehmen und so zu verhüten, dass das Wasser in den die Kohlensäure bindenden Apparat gelangt. Das alkalisch reagirende käufliche Chlorcalcium ist dazu nicht geeignet, weil es Aetzkalk enthält, und deshalb Kohlensäure binden würde. Solches Chlorcalcium muss vorher mit Kohlensäure gesättigt werden. Man füllt ein etwa 10 cm hohes U-Rohr („Chlorcalciumrohr") dicht mit kleinerbsengrossen Stücken Chlorcalcium, bringt in jede Mündung einen lockeren Pfropf Watte und leitet durch das Rohr $1/2$ Stunde lang einen ziemlich raschen Strom durch Schwefelsäure getrocknete Kohlensäure. Dann saugt man durch das Rohr gleichfalls $1/2$ Stunde lang getrocknete Luft, um die überschüssige Kohlensäure aus dem Rohr zu verdrängen. Die das Rohr verschliessenden Korke werden mit Siegellack überzogen, damit sie weder Wasser abgeben, noch aufnehmen.

---

[1]) H. Ritthausen, Journ. f. prakt. Chemie [2] **25**. 141. 1882.
[2]) P. Fritsch, Ann. d. Chemie **294**. 83. 1896.

6. **Eine Lösung von 1 Theil Kaliumhydrat in 2 Theilen Wasser** (Verbrennungslauge) zur Aufnahme der Kohlensäure. Von dieser wird in einen Geissler'schen Kaliapparat in der Richtung nach der grossen Kugel so viel gesogen, als hinreicht, um die unteren drei Kugeln vollständig zu füllen; das Rohr, welches dabei mit der Lauge benetzt worden ist, wird mittelst Fliesspapier in- und auswendig getrocknet. Das an den Kaliapparat angeschliffene kurze horizontale Rohr wird mit Stückchen Kaliumhydrat gefüllt zur Aufnahme des Wassers, welches durch die trocken in den Apparat tretende Luft der Lauge entzogen wird. Der Kaliapparat wird verschlossen durch kurze Stücke Kautschukschlauch, deren freie Enden durch Glasstäbchen verschlossen sind.

An Stelle der Kalilauge kann auch verwendet werden

7. **Natronkalk** als grobsandiges Pulver, das durch Metallsiebe von geeigneter Maschengrösse einerseits von Staub, anderseits von zu grossen Stücken befreit worden ist. Man füllt von einem ungefähr 10 cm hohen U-Rohr den einen Schenkel ganz, den andern zu 7/8 mit dem Natronkalk dicht an und den leer gebliebenen Theil mit erbsengrossen Stücken käuflichen Chlorcalciums. In beide Schenkel kommt dann noch obenauf ein lockerer Pfropf Watte. Der Natronkalk, ein Gemeng von Calciumhydrat und Natriumhydrat, giebt bei der Aufnahme der Kohlensäure Wasser ab; dieses soll von dem Chlorcalcium zurückgehalten werden. Wenn das Rohr mit Hähnen versehen ist, so wird es durch diese verschlossen, sonst in der Art wie der Kaliapparat (6). Man braucht zwei solche Natronkalkrohre.

8. Ein ungefähr 8 cm langes, 12—15 mm weites, an dem einen Ende spitz ausgezogenes Glasrohr mit Stückchen Kaliumhydrat. Das andere Ende wird mit einem Stöpsel verschlossen, welcher in seiner Bohrung ein schwaches Glasrohr enthält. Es dient dem Natronkalkrohr zum Schutz vor Wasserdampf und Kohlensäure.

Als **U-Rohre** verwendet man, mit Ausnahme des Chlorcalciumrohrs, womöglich solche mit eingeschliffenen Glashähnen. Korkstöpsel sind mit geschmolzenem Siegellack zu überziehen wie bei 5.

B. Ausführung.

a. Unter Verwendung des Kaliapparates.

Der **Apparat** wird in folgender Weise zusammengestellt. In die Mündung eines 150 cc fassenden langhalsigen Fractionirkölbchens, dessen seitliches Rohr etwas in die Höhe gebogen ist, wird mittelst Kautschukpfropfens ein langer, mit Glashahn versehener, etwa 50 cc fassender Scheidetrichter luftdicht eingepasst. Sein Rohr soll in das Kölbchen bis zum unteren Drittel des Bauches reichen. Da durch das Trichterrohr concentrirte Schwefelsäure fliessen soll, so darf der Hahn nicht gefettet sein; um ihn leicht beweglich zu machen, benetzt man ihn mit Schwefelsäure. In die Mündung des Scheidetrichters fügt man mittelst Kautschukschlauch als Stopfen ein Knierohr ein, von welchem ein Schlauch zu einer mit concentrirter Natronlauge gefüllten Drechsel-schen Waschflasche führt. Diese Vorrichtung dient dazu, kohlensäurefreie Luft durch den Apparat zu leiten. Das Kölbchen wird so an einem Gestell befestigt, dass sein Boden 10 cm von der Mündung eines Bunsenbrenners entfernt ist; über die Mündung des Brenners stülpt man ein feines Kupferdrahtnetz, damit die Flamme, wenn sie sehr klein gemacht werden muss, nicht zurückschlägt.

An das Kölbchen fügt man nach dem Vorschlag von Küster und Stallberg[1]) ein an dem einen Ende spitz ausgezogenes, 10 cm langes 12—15 mm weites, lose mit Glaswolle gefülltes Glasrohr; es dient zum Auffangen der sich im Kölbchen bildenden Nebel. In das freie Ende dieses Rohrs kommt ein Kautschukstopfen mit kurzem Gasleitungsrohr. Ein Rückflusskühler zwischen diesem Rohr und dem Kölbchen ist überflüssig. Mit dem Glaswollrohr wird mittelst Kautschukschlauch das Trockenrohr (3) und mit diesem wieder das Verbrennungsrohr (4) verbunden. Das Verbrennungsrohr ist mit der das Bleichromat enthaltenden Seite dem Trockenrohr zugekehrt; in dieses Ende wird ein Kork- oder Kautschukpfropf mit kurzem Glasrohr eingesetzt, von welchem ein Kautschukschlauch zum Trockenrohr (3) führt. In das freie Ende des Verbrennungsrohrs wird mittelst Kork- oder Kautschukstöpsel das Chlorcalciumrohr eingefügt.

Ist der Apparat so weit zusammengestellt, so schüttet man in das Kölbchen, das noch nicht mit den übrigen Bestandtheilen verbunden war, ungefähr 5 g Kaliumpyrochromat (2). Dann wird das Trichterrohr dicht eingesetzt, das Kölbchen im Halter befestigt und mit dem übrigen Apparat verbunden. Man stellt dann weiter die Verbindung des Trichterrohrs mit der die Natronlauge enthaltenden Waschflasche her, zündet kleine Flammen unter dem Verbrennungsrohr an und leitet einen ziemlich lebhaften Strom (nun kohlensäurefreier) Luft (wenigstens eine halbe Stunde lang) durch den Apparat, entweder durch Saugen mittelst eines (6—8 Liter fassenden) Aspirators, oder besser durch Druck mittelst eines Luftgasometers; der Gasstrom wird durch eine Bunsen-sche Klemme oder besser durch einen Habermann'schen Hahn regulirt.

Unterdess wird der Kaliapparat gewogen, was, da 5 cc normaler Harn nach den bisherigen Erfahrungen ungefähr 0,15 g Kohlensäure liefern, mit grösster Sorgfalt zu geschehen hat. Der Apparat muss vor der Wägung die Temperatur des Wageraums angenommen und dazu verschlossen ungefähr zwei Stunden in demselben verweilt haben. Man entfernt vom Kaliapparat die Kautschukverschlüsse, wischt ihn mit einem feinen Tuch sorgfältig ab, namentlich auch da, wo der Kautschuk gesessen hat und wägt bis auf Decimilligramme. Der Apparat wird verschlossen zum Verbrennungsofen getragen.

Nachdem das Verbrennungsrohr durch allmähliches Vergrössern der Flammen auf Rothgluth gebracht worden ist, wobei aber die Flammen das Rohr nicht umspülen dürfen, weil es sonst aufschmilzt, fügt man mittelst eines sehr fest sitzenden Kautschukschlauchs den Kaliapparat an das Chlorcalciumrohr; die grosse Kugel des Kaliapparates wird dabei

[1]) F. W. Küster u. A. Stallberg, Ann. d. Chemie **278**. 214. 1893.

dem Verbrennungsrohr zugekehrt. An den Kaliapparat schliesst sich mittelst eines längeren Kautschukschlauchs das Sicherheitsrohr (8) an. Man füllt dann in den Kolben 5 (oder 10 cc) Harn, indem man die Spitze der Pipette oder Burette bis auf den Boden des Trichterrohrs einführt, spült mit wenig Wasser nach und lässt darauf durch das Trichterrohr 25 cc Schwefelsäure (1) eintropfen, anfangs sehr langsam, später etwas schneller, wobei man sich nach der Zahl der Blasen richtet, welche durch den Kaliapparat hindurchgehen; sie soll jetzt und während der ganzen Verbrennung nicht viel mehr als 40 in der Minute betragen. Der gelbe Nebel von Chromylchlorid CrO_2Cl_2, welcher sich beim Eintliessen der Schwefelsäure im Kölbchen entwickelt, wird von der Glaswolle zurückgehalten. Ist die ganze Schwefelsäure eingeflossen, so schliesst man den Hahn und zündet unter dem Kolben eine kleine Flamme an. Lässt die Gasentwickelung nach, so vergrössert man die Flamme ein wenig. Die Oxydation ist zu Ende, wenn die Flüssigkeit grün geworden ist und die Gasentwickelung nun ganz aufgehört hat, was fast plötzlich eintritt. Noch stärker zu erhitzen, ist unnöthig, weil das sich dann noch entwickelnde Gas aus Sauerstoff besteht.

Der ganze Apparat ist jetzt mit Sauerstoff und dem Rest der noch nicht absorbirten Kohlensäure und des noch nicht völlig oxydirten Kohlenoxyds erfüllt. Diese müssen noch den absorbirenden Substanzen zugeführt und der Sauerstoff aus diesem ausgetrieben und durch Luft ersetzt werden, weil die sauerstoffhaltigen Apparate schwerer sind als die lufthaltigen. Man lässt also wieder kohlensäurefreie Luft, wie vor dem Beginn der Analyse, durch den Apparat streichen mit derselben geringen Geschwindigkeit, welche die Gasentwickelung während der Verbrennung haben sollte. Das Einpressen der Luft ist dem Saugen vorzuziehen, weil man dabei Gelegenheit hat, sich zu überzeugen, ob der Apparat sauerstofffrei geworden ist; ein glimmendes Spähnchen, das man nahe an das freie Ende des Sicherheitsrohres hält, giebt darüber Auskunft. Andernfalls lässt man den Luftstrom $^3/_4$—1 Stunde anhalten. Während des Durchleitens von Luft wird das Verbrennungsrohr noch geglüht wie vorher, um in dem Luftstrom enthaltenes Kohlenoxyd vollends zu oxydiren.

Zuletzt wird der Kaliapparat abgenommen, verschlossen und erst dann gewogen, wenn er bis gegen 2 Stunden im Wageraum aufbewahrt worden ist. Er hat durch die heisse Luft, welche durch ihn hindurch gegangen ist und durch die bei dem Binden der Kohlensäure entwickelte Wärme eine höhere Temperatur als die des Wageraums angenommen. Beginnt man mit dem Wägen zu früh, so nimmt der Apparat fortwährend an Gewicht zu. Es ist selbstverständlich, dass der Apparat wieder offen und abgewischt auf die Wage gestellt wird.

Der Kaliapparat kann mit derselben Füllung bis zu sechs Verbrennungen gebraucht werden, namentlich wenn man vor der neuen Verbrennung die Lauge in die grosse Kugel gesogen und wieder hat zurückfliessen lassen.

b. Unter Verwendung von Natronkalk.

Der Apparat, welcher zur Verbrennung unter Verwendung des Kaliapparats dient, wird an zwei Punkten abgeändert. An Stelle des Rohrs mit der Glaswolle zunächst dem Kölbchen wird ein kleines Peligot'sches Rohr, womöglich ohne Kugel in der Krümmung eingeschaltet. In dasselbe giesst man nur soviel Schwefelsäure, dass die Krümmung gerade geschlossen ist. Die Füllung mit Schwefelsäure dient dazu, die Geschwindigkeit des Gasstroms bemessen zu können; es sollen in der Minute nicht mehr als 20—25 Blasen durch das Rohr gehen. In die Schenkel des Rohrs stopft man locker Glaswolle.

Anstatt des Kaliapparats werden an das Chlorcalciumrohr zwei Natronkalkrohre (7) hinter einander angeschlossen und an diese das Sicherheitsrohr (8). Der allein mit Natronkalk gefüllte Schenkel ist dem Verbrennungsrohr zugewendet. Man wägt jedes Rohr für sich; hat das zweite an Gewicht zugenommen, so bringt man dieses an dem Chlorcalciumrohr an. Das erste wird frisch gefüllt und nimmt nun die Stelle des vorher zweiten ein. Das Wägen der Rohre vor und nach der Verbrennung geschieht nach derselben Regel wie die des Kaliapparates. Sind die Rohre mit Kautschukschlauch verschlossen, so nimmt man diese vor dem Wägen ab; sind sie mit Hähnen versehen, so öffnet man diese unmittelbar vor dem Wägen vorübergehend und wägt die Rohre verschlossen.

Die Natronkalkrohre haben vor dem Kaliapparat den Vorzug, dass nicht so leicht Kohlensäure der Absorption entgeht, wenn der Gasstrom zeitweilig etwas schneller ist als er sein sollte. Im Uebrigen wird die Verbrennung nach der bei a gegebenen Vorschrift ausgeführt.

B. Bestimmung durch Titriren.

Nach dem Vorgang von Pettenkofer[1]) wird die gebildete Kohlensäure in einem abgemessenen Volumen Barytwasser von bekanntem Gehalt aufgefangen und die ungebundene Menge Baryt zurücktitrirt. Aus der verbrauchten Menge Baryt lässt sich die Menge der Kohlensäure berechnen.

---

[1]) M. Pettenkofer, Ann. d. Chem. u. Pharm. Suppl. 2. 23 u. 36. 1862.

Für die Bestimmung von Kohlenstoff in organischen Verbindungen wurde dieses Princip zuerst von Okada, für die Analyse des Harns von Scholz[1]) angewandt.

A. Erfordernisse.

1. Barytwasser mit ungefähr 37 g krystallisirtem Baryumhydrat ($Ba[OH]_2$ $8 H_2O$) im Liter; von diesem bindet 1 cc gegen 5 mg CO_2. Der wahre Gehalt desselben an Baryumhydrat wird durch Titriren festgestellt. Da man zu jedem einzelnen Versuch ungefähr 100 cc verbraucht, so stellt man eine grössere Menge desselben dar oder hält wenigstens concentrirteres Barytwasser vorräthig, das man dann vor der Titerstellung entsprechend verdünnt.

2. Zehntelnormale Salzsäure oder Schwefelsäure; 1 cc derselben entspricht 2,2 mg CO_2.

3. Titerstellung des Barytwassers. Das Barytwasser darf mit der Luft nicht in Berührung kommen, weil es sofort Kohlensäure anzieht und damit seinen Titer ändert; man lässt es daher aus der Vorrathsflasche von unten in die Burette aufsteigen. An das untere Ende der Burette wird mittelst eines kurzen Kautschukschlauchs ein kleines rohr angesetzt, dessen senkrechtes Ende sich in die Ausflussspitze fortsetzt; der zwischen der Ausflussspitze und dem rohr befindliche Kautschukschlauch trägt den Quetschhahn. Das seitliche Stück des —| rohres wird mittelst eines langen Schlauches mit dem Heberrohr der Vorrathsflasche verbunden; dieser Schlauch kann mit einem Quetschhahn verschlossen werden.

Die Flasche mit dem Barytwasser ist mit einem dreifach durchbohrten Stopfen verschlossen. In der einen Bohrung befindet sich das aussen rechtwinklig umgebogene Heberrohr; dieses reicht bis fast zum Boden der Flasche, über das äussere Ende wird der zur Burette führende Kautschukschlauch geschoben. Der so hergestellte Heber soll durch in die Flasche gepresste Luft gefüllt werden; die Luft muss aber frei von Kohlensäure sein. Das erreicht man dadurch, dass man in die zweite Bohrung des Stopfens ein U-Rohr einsetzt, welches mit einer die Kohlensäure bindenden Substanz versehen ist (grobe Stücke von Natronkalk, mit concentrirter Natronlauge benetzter Bimsstein). Damit das Barytwasser in der Burette keine Kohlensäure anzieht, setzt man ihr oberes Ende mit dem Luftraum der Flasche in Verbindung; in die Burette wird mit einem Stöpsel ein rechtwinklig gebogenes Rohr eingefügt, von welchem ein Kautschukschlauch zu einem in der dritten Bohrung des Stopfens sitzenden gleichfalls rechtwinklig gebogenen Rohr führt. Will man die Burette füllen, so öffnet man die Burette oben, klemmt den Schlauch zu, öffnet den Quetschhahn am unteren Ende des Hebers und drückt mit einem Kautschukballon durch das U-Rohr Luft in die Flasche. In Ermangelung des Gebläses kann man den Heber auch durch einen langen Kautschukschlauch von der Ausflussspitze der Burette aus ansaugen. Der Heber füllt sich und das Barytwasser steigt in der Burette in die Höhe. Man setzt dann wieder den Stopfen in die obere Oeffnung der Burette. Sind die ersten Antheile der Flüssigkeit von Substanz aus der Leitung trüb, so lässt man sie aus der Ausflussspitze der Burette abfliessen. Wenn die Burette gefüllt ist, sperrt man den Heber durch seinen Quetschhahn nahe am rohr. Ist das Barytwasser in der Flasche nicht ganz klar, so schaltet man in den Heberschlauch ein ungefähr 6 cm langes, gegen 1,5 cm weites, nicht zu fest mit Verbandwatte gefülltes Glasrohr als Filter ein.

Man bedient sich dann der mit Schwimmer versehenen Burette wie gewöhnlich. Es werden 20 cc Barytwasser in ein Kölbchen abgelassen und mit $^1/_{10}$ normaler Säure (2) bis zur neutralen Reaction versetzt. Man titrirt mit Methylorange bis zum ersten Erscheinen einer Spur Braun, oder mit Phenolphtalein bis zum Verschwinden des Roth (S. 658). Beide Indicatoren sind gleich gut zu verwenden,

---

[1]) K. Okada, Archiv f. Hygiene **14**. 364. 1892. — W. Scholz, Centralbl. f. innere Med. 15. 1897.

nur braucht man bei Phenolphtalein einige Zehntelcubikcentimeter weniger Säure, als bei Methylorange, wohl weil das Phenolphtalein selbst oder eine in ihm enthaltene Säure etwas Baryt bindet. Man muss daher bei der Titerstellung und bei der Rücktitrirung denselben Indicator anwenden und das Phenolphtalein immer in gleicher Tropfenzahl zusetzen.

Der wahre Titer des Barytwassers wird so ermittelt, dass man für jeden verbrauchten cc Säure 2,2 mg CO_2 rechnet. Hat man für 20 cc Barytwasser 42,0 cc Säure verbraucht, so können diese 20 cc $42 \times 2,2 = 92,4$ und 1 cc 4,62 mg CO_2 binden.

4. Das Barytwasser dient zum Füllen des Pettenkofer'schen Barytrohrs. Zu der Bestimmung des Kohlenstoffs im Harn eignet sich ein 1,5 cm weites, 55—60 cm langes Rohr. Es ist an beiden Enden in einem halben rechten Winkel aufgebogen; das eine aufgebogene Ende, durch welches die Kohlensäure eingeleitet wird, ist 10 cm lang, das andere Ende ist zu einer Kugel etwa vom doppelten Durchmesser des Rohrs aufgeblasen und in der Längsachse in ein kurzes, als Schlauchansatz dienendes Rohr ausgezogen. In das cylindrische Ende wird mit einem Stopfen luftdicht ein Glasrohr eingepasst, welches mit seinem spitz ausgezogenen Ende ein Stück in den langen Theil des Rohrs hineinragt, damit die austretenden Luftblasen in diesen Theil gelangen und nicht wieder in dem kurzen Schenkel emporsteigen. Pettenkofer erreicht denselben Zweck durch einen in den langen Theil des Rohrs eingeführten engen Kautschukschlauch. Man braucht zwei solche Rohre, oder eines von der angegebenen Grösse und ein kleineres.

B. Ausführung. Der Apparat ist derselbe, wie bei der Bestimmung der Kohlensäure unter Verwendung des Kaliapparats, nur bleibt das Chlorcalciumrohr am Ende des Verbrennungsrohres weg und an Stelle des U-Rohres mit der Schwefelsäure (3. S. 792) kann ein U-Rohr treten, welches mit Wasser benetzten, ausgeglühten Bimsstein enthält. An das freie Ende des Verbrennungsrohres setzt man luftdicht ein kurzes Glasrohr ein, und verbindet dieses durch einen längeren Kautschukschlauch mit dem Zuleitungsrohr des Barytrohrs. Zur Absorption von 0,15 g Kohlensäure, welche im Mittel 5 cc Harn liefern, genügen ungefähr 30 cc Barytwasser von der angegebenen Concentration. Man misst sonach aus der Burette 60 cc oder mehr in das trockne Barytrohr; es fasst 80 cc, ohne dass es beim Einleiten des Gases überläuft. An dieses Rohr schliesst man mit Kautschuckschlauch ein zweites an, wodurch man erfährt, ob im ersten Rohre die Kohlensäure vollständig aufgenommen wird, und wodurch man sich zugleich vor Verlusten schützt. Ist das zweite Rohr kleiner, als das erste, so beschickt man es mit demselbeu Barytwasser, wie das erste; ist es ebenso gross, so kann man zur Füllung desselben ein verdünnteres, etwa nur $^1/_4$ oder $^1/_3$ so concentrirtes, aber gleichfalls von ermitteltem Titer, verwenden. Den Rohren ertheilt man in ihren Haltern eine mit der Kugel schwach nach oben gerichtete Lage, so dass die Gasblasen in dem Rohr in der Richtung nach der Kugel aufsteigen. Die Lage wird so gewählt, dass nur kleine Blasen in unmittelbarer Folge im Rohr emporsteigen. Die Verbrennung nimmt man gerade so vor, wie bei Verwendung der anderen Absorptionsapparate. Wenn sie zu Ende ist,

so saugt oder treibt man kohlensäurefreie Luft mit derselben Geschwindigkeit durch das Barytwasser wie während der Verbrennung.

Es ist dann der überschüssige Baryt zurückzutitriren. Zu diesem Zwecke giesst man die Flüssigkeit aus dem Barytrohr in einen Cylinder, verschliesst ihn luftdicht, lässt den kohlensauren Baryt sich absetzen, hebt mit einer Pipette 20 cc von der klaren Lösung heraus und bestimmt den Baryt wie bei der Titerstellung (A. 3). Der Sicherheit wegen wiederholt man diese Titrirung wenigstens noch einmal. Wenn man die Pipette in gewöhnlicher Weise mit dem Mund ansaugt und dann mit dem Finger schliesst, so fliesst etwas Flüssigkeit wieder zurück und rührt den Niederschlag auf, so dass man eine zweite Titrirung nicht sofort nach der ersten vornehmen kann. Man saugt daher die Pipette mit einem langen, dünnwandigen, weichen Kautschukschlauch an, den man über das freie Ende der Pipette geschoben hat, und drückt diesen noch während des Saugens mit einem Finger fest auf die Mündung der Pipette an. Dabei würde Kohlensäure aus der Athemluft in die Pipette gelangen. Um dies zu verhindern, schaltet man in den Kautschukschlauch ein mit grobem Natronkalk gefülltes Glasrohr ein: durch Wattepfropfen an beiden Enden wird der Natronkalk am Herausfallen gehindert.

In dem Barytwasser darf kein kohlensaurer Baryt suspendirt sein, weil sonst die Bestimmung falsch wird. Das Absitzen des Niederschlags nimmt einen halben Tag in Anspruch und man ist auch dann nicht sicher, ganz klare Flüssigkeit in die Pipette zu bekommen. Schneller und sicherer kommt man zum Ziele, wenn man den kohlensauren Baryt abfiltrirt. Das darf jedoch nicht durch ein gewöhnliches Filter unter Zutritt von Luft geschehen. Man verwendet dazu vielmehr eine Vorrichtung mit Wattefilter, wie bei der Titerstellung (A. 3), indem man das filtrirte Barytwasser in der Burette aufsteigen lässt. Die Saugspitze des Barytrohres wird mittelst Kautschukschlauch an das ─┼-Rohr der Burette angefügt, das Barytrohr senkrecht gestellt und das Zuleitungsrohr am freien Ende luftdicht wie die Barytflasche mit einem U-Rohr verbunden, welches Kohlensäure absorbirende Substanz enthält. Das obere Ende der Burette verbindet man wieder mit dem U-Rohr.

Für die Berechnung der Analyse braucht man zwei Werthe, nämlich dasjenige Volumen Säure, welches zum Neutralisiren des gesammten, vorgelegten Barytwassers erforderlich gewesen wäre und das für das gesammte Barytwasser beim Zurücktitriren. Die Differenz mal dem Titer der Säure ergiebt die Menge der gebundenen Kohlensäure in Milligramm.

Es seien 60 cc Barytwasser in das Pettenkofer'sche Rohr gemessen worden und 20 cc haben zum Neutralisiren 42 cc $^1/_{10}$ n. Säure gebraucht, was für die 60 cc

Barytwasser 126 cc Säure ausmacht. Nach der Verbrennung habe man für 20 cc Barytwasser 24 cc Säure verbraucht, für 60 also 72 cc. Die Menge der gebundenen Kohlensäure beträgt dann 2,2 (126—72) = 2,2 × 54 = 118,8 mg.

§ 74. Bestimmung des Stickstoffs.

Verfahren nach Kjeldahl[1]).

Vor den übrigen Methoden der Stickstoffbestimmung verdient für den Harn die von Kjeldahl den Vorzug, weil sie ganz zuverlässige Resultate liefert, mit einfachen Mitteln ausgeführt werden kann, einen mässigen Anspruch an die Geschicklichkeit und die Erfahrung des Analytikers stellt, geringe Ueberwachung erfordert und weil sie eine grössere Anzahl Bestimmungen gleichzeitig nebeneinander vorzunehmen gestattet. Als besondere Erfordernisse kommen wesentlich nur in Betracht geprüfte Lösungen und ein Abzug für die sich bei einem Theil der Arbeit entwickelnden Säuredämpfe.

A. Princip. Die organische Substanz wird durch Erhitzen mit concentrirter Schwefelsäure unter Oxydation des kohlenstoffhaltigen Antheils zerstört, wobei aller Stickstoff solcher Substanzen, welche ihn nicht als eine Sauerstoffverbindung enthalten, als Ammoniak auftritt. Der Harnstoff wird direct in Kohlensäure und Ammoniak zerlegt. Aus der erhaltenen sauren Lösung wird das Ammoniak nach dem Uebersättigen mit Natronlauge abdestillirt, in einem abgemessenen Volumen titrirter Säure aufgefangen und die nicht gebundene Säure zurücktitrirt.

Die Schwefelsäure entzieht nach Dafert[2]) der organischen Substanz Wasser und oxydirt die gebildete kohlige Substanz; die dabei gebildete schweflige Säure reducirt die stickstoffhaltige Substanz zu Ammoniak (oder Aminbasen).

Das Verfahren ist vielfach abgeändert worden; ich beschreibe dasselbe so, wie es sich mir unter der Benutzung der Erfahrungen und Vorschläge Anderer als zweckmässig erwiesen hat.

B. Erfordernisse.

1. Englische Schwefelsäure.
2. Kupfersulphat.
3. Kaliumsulphat.
4. Eine Lösung von 250 g Natriumhydrat im Liter; die Lauge hat dann eine Dichte von 1,230. Die Lösung soll keine Salpetersäure enthalten. Ist dies der Fall, so kann man sie nach Arnold[3]) dadurch von ihr befreien, dass man sie mit etwas Zink in einem eisernen Kessel eine Stunde lang kocht und sie nach dem Erkalten wieder auf das ursprüngliche Volumen verdünnt. Uebrigens ist für diesen Zweck stickstofffreies Natriumhydrat im Handel.
5. Talk (Talcum venetum, Federweiss).
6. Viertel-Normalschwefelsäure.
7. Zehntel-Normalnatronlauge.

---

1) J. Kjeldahl, Ztschr. f. analyt. Ch. **22**. 366. 1883.
2) F. W. Dafert, Ztschr. f. analyt. Ch. **24**. 455. 1885.
3) C. Arnold, 17. Jahresb. der k. Thierarzneischule zu Hannover 1885. S. 121; Ztschr. f. analyt. Ch. **25**. 454; Archiv d. Pharm. [3] **23**. 177. 1885.

Da die Schwefelsäure und die anderen Reagentien stickstoffhaltige Verbindungen enthalten können, welche bei der Ausführung des Verfahrens für sich Ammoniak liefern, so stellt man einen Versuch nach C. mit 0,5 g Zucker an, bestimmt das dabei gebildete Ammoniak und zieht diese Menge von der in jedem Versuch mit Harn gefundenen ab.

C. Ausführung. 1. Oxydation des Harns. Es werden je nach der Concentration des Harns 5 oder 10 cc desselben, die mit einer Schwimmerburette abgemessen werden, in einem ungefähr 200 bis 300 cc fassenden Kölbchen mit rundem Boden und langem engen Hals aus hartem Glas (»Kjeldahl-Kolben«) mit 5 oder 10 cc Schwefelsäure, ungefähr 0,5 g Kupfersulphat und 3 g Kaliumsulphat versetzt und die Mischung im schiefliegenden Kolben mit einem einfachen Brenner in schwachem Sieden erhalten, bis die anfangs braun werdende Flüssigkeit wieder die Farbe des Kupfervitriols angenommen hat, was in 10—15 Minuten zu erreichen ist.

Der Zusatz von Metalloxyden befördert, wie Wilfarth gezeigt hat, die Zerstörung der organischen Substanz ausserordentlich. Das Kupferoxyd steht zwar in dieser Hinsicht dem Quecksilberoxyd nach; bei der Verwendung von Quecksilberoxyd bildet sich aber eine Mercurammonverbindung, nach Moreigne[1]) Tetramercurammonsulphat $(NHg_2)_2SO_4, 2\,H_2O$, welche bei der nachfolgenden Destillation mit Natronlauge nicht zerlegt wird; um auch das in der Verbindung enthaltene Ammoniak in Freiheit zu setzen, wäre eine Behandlung derselben mit Schwefelkalium oder Schwefelnatrium erforderlich.

Eine weitere wesentliche Beschleunigung erfährt die Oxydation nach Gunning durch die Gegenwart von Kaliumpyrosulphat $K_2S_2O_7$ in der Flüssigkeit. Es ist dabei nicht nöthig, dass man Pyrosulphat als solches verwendet, sondern es genügt, wie Arnold u. Wedemeyer, Winton, sowie Krüger u. Wulff[2]) gethan haben, der Zusatz von Kaliumsulphat K_2SO_4 allein. Die Bildung des Pyrosulphats findet in der Flüssigkeit selbst statt. Ausser der Beförderung der Oxydation bietet das Kaliumsulphat noch den Vortheil, dass die oxydirende Schwefelsäure durch das Erhitzen nie ganz ausgetrieben werden kann.

Wenn man mehrere Bestimmungen neben einander auszuführen hat, misst man die Schwefelsäure zweckmässig mit einer Glashahnburette ab. Für mehrfache Oxydationen bedient man sich eines Gestelles, auf welchem die Kjeldahl-Kolben neben einander Platz haben. Sind die Kolben weithalsig, so steckt man, um das Verdunsten der Schwefelsäure zu beschränken, kleine langhalsige Trichter in dieselben.

Die Oxydation ist nur anfangs zu überwachen, damit die stark schäumende Flüssigkeit nicht in den Kolbenhals steigt; die dort haften bleibende kohlige Substanz lässt sich nur schwer oder gar nicht in das Oxydationsgemisch zurückbringen.

2. Die Destillation muss so vorgenommen werden, dass von der Lauge, welche das Ammoniak in Freiheit setzt, Nichts in die vorgelegte Schwefelsäure überspritzt. Das wird verhütet durch einen Auf-

---

1) Wilfarth, Chem. Centralbl. 1885. 17 u. 113; Ztschr. f. analyt. Ch. **24**. 455. — H. Moreigne, Bull. de la Soc. chim. [3] **11**. 965. 1894.

2) J. W. Gunning, Ztschr. f. analyt. Ch. **28**. 188. 1889. — C. Arnold u. K. Wedemeyer, Ztschr. f. analyt. Ch. **31**. 525. 1892; Pflüger's Archiv **52**. 590. 1892. — A. L. Winton, Chem. News **66**. 227; Ztschr. f. analyt. Ch. **32**. 478. — M. Krüger u. C. Wulff, Ztschr. f. physiol. Ch. **20**. 181. 1894.

satz auf dem Destillationskolben. Der condensirte Dampf soll ferner nicht durch ein Rohr aus weichem Glas der Schwefelsäure zugeführt werden, weil die heisse Flüssigkeit aus diesem Alkali auflösen kann.

Als Destillationsaufsatz verwende ich ein gegen 1 cm weites Glasrohr aus hartem Glas, welches 30 cm weit in schiefer Richtung aufsteigt, dann mit dem dünner ausgezogenen Ende senkrecht hinabgebogen ist. Aufspritzende Lauge fliesst aus dem Rohr in den Kolben zurück. Er wird mit einem Kautschukpfropfen in den 0,75 Liter fassenden Kolben eingesetzt, und das senkrechte Ende mittelst Kautschukschlauch mit dem Kühler verbunden. Der von mir gebrauchte Kühler besteht aus einer 1 m langen Schlange aus Zinnrohr von 9 mm äusserem Durchmesser, wie es bei den Bierdruckapparaten in Verwendung ist. Das Schlangenrohr befindet sich in einer 15 cm hohen, 8 cm weiten Büchse aus Zinkblech, deren Boden einen kurzen Ansatz hat, in welchem das Ende des Schlangenrohrs mit Kork eingefügt ist; am oberen Ende wird das Rohr durch eine angelöthete Brücke in seiner Lage festgehalten. Oben hat die Büchse einen seitlichen Ansatz für den Abfluss des Kühlwassers, das durch ein Rohr auf den Boden der oben offenen Büchse geleitet wird. Die Büchse kann auch oben mit einem aufgelötheten Deckel verschlossen sein; dann hat man, wie bei einem gewöhnlichen Kühler, das kalte Wasser durch einen am unteren Ende der Büchse angebrachten Ansatz zuzuleiten.

Fig. 55.



Das untere, aus der Büchse hervorragende Ende der Kühlschlange wird mittelst Kautschukschlauch mit einem Glasrohr verbunden, welches in die in einem 0,5—0,75 Ltr. fassenden Kolben befindliche Viertelnormal-Schwefelsäure taucht (Fig. 55). Damit die Säure bei Temperaturschwankungen nicht in den Kühler emporsteigt, ist das Rohr etwa in halber Höhe mit einem Loch versehen; um dieses herzustellen, erweicht man das Rohr an dieser Stelle mit dem Gebläse und zieht mit einem Platindraht einen Glasfaden aus, den man nahe am Rohr abschneidet.

Durch dieses Loch kann Ammoniak entweichen; damit dieses nicht verloren geht, trägt der Kautschukpfropfen, mit welchem der Kolben

verschlossen wird, noch ein Glasperlen enthaltendes Rohr, welche mit der zugemessenen Schwefelsäure benetzt sind.

Der Apparat nimmt nicht viel Platz ein, es lassen sich leicht mehrere nebeneinander aufstellen. Hat man öfters viele Stickstoffbestimmungen auf einmal auszuführen, so kann man die Kühlschlangen in einem mit Wasserzu- und Abfluss versehenen Blechkasten nebeneinander unterbringen.

Es sind viele Abänderungen des Destillationsapparates angegeben. Diejenigen, bei welchen das Steigrohr an dem dem Kolben zugekehrten Ende Perlen enthalten soll, empfehlen sich nicht, weil sich in ihnen der Dampf condensirt und die Flüssigkeit vom Dampfstrom wieder unter Verspritzen derselben durchbrochen wird. Geeignete Destillationsaufsätze scheinen noch der von Stein u. Schwarz und der von Hopkins[1]) angegebene zu sein, bei welchen der Dampf durch seitliche Löcher in das Dampfrohr eintritt; sie sind aber immer noch complicirter als das einfache Steigrohr.

Von den verschiedenen Modificationen erwähne ich besonders nur die von Reitmair u. Stutzer[2]) eingeführte. Das den Dampf abführende ungefähr 8 mm weite Rohr ist 10 cm über seinem unteren Ende zu einer ungefähr 6,5 cm weiten Kugel aufgeblasen. In dem oberen Pol der Kugel ist ein ebenso weites, unter stumpfem Winkel schwach nach abwärts gebogenes Rohr eingeschmolzen, das sich ausserhalb der Kugel ungefähr 10 cm senkrecht nach oben fortsetzt, dann 30 cm weit horizontal verläuft und mit seinem Ende senkrecht nach unten gerichtet ist. Mit diesem Ende wird es in den Kühler eingepasst. Der Kühler besteht aus einem ungefähr 40 cm langen Glasrohr, welches am oberen Ende zu zwei Kugeln von demselben Durchmesser wie der der Kugel am Steigrohr aufgeblasen ist; einen Kühlmantel besitzt das Kühlrohr nicht. Es taucht mit dem unteren Ende in die vorgelegte Säure.

Das stumpfwinklig gebogene Rohr in der ersten Kugel hält die verspritzte Lauge auf; was von ihr etwa in das gekrümmte Rohr gelangt, tropft mit condensirtem Dampf wieder zurück. Eine eigentliche Kühlung findet nicht statt. Die vorgelegte Säure kann in's Sieden gerathen, ohne dass man nach Reitmair u. Stutzer einen Verlust an Ammoniak oder Schwefelsäure zu befürchten hat. Beim Verlöschen der Flamme steigt die Flüssigkeit in das Kühlrohr auf und kann von den Kugeln aufgenommen werden; um ein Ueberspritzen von Destillat in das horizontale Rohr zu vermeiden, muss man die Verbindung zwischen ihm und dem Kühlrohr schnell unterbrechen. Vor dem Titriren ist das Kühlrohr innen und aussen gut abzuspülen. Der Apparat hat den Vortheil, dass er kein Kühlwasser erfordert; aber er ist leicht zerbrechlich.

Bei der Ausführung der Destillation hat man folgendermaassen zu verfahren. Man misst in die Vorlage durch das Perlrohr aus einer Burette Viertelnormalschwefelsäure ein, von der für 5 cc Harn mittlerer Concentration 15—20 cc genügen. Dann fügt man die Vorlage an den Kühler und setzt den Apparat, mit Ausnahme des Destillationskolbens vollständig zusammen. Den beim Erkalten starr gewordenen Inhalt des Kjeldahl-Kolbens löst man unter Erwärmen in möglichst wenig Wasser,

---

[1]) W. M. Stein u. P. W. Schwarz, Ztschr. f. analyt. Ch. 28. 428. 1889. — Cyril G. Hopkins, Journ. of the Amer. chem. Soc. 13. 227; Chem. Centralbl. 1896. 1. 1079.

[2]) O. Reitmair u. A. Stutzer, Repertorium der analyt. Ch. 5. 232; Ztschr. f. analyt. Ch. 25. 582. 1886.

giesst die Lösung in den Destillationskolben und spült noch 3 Mal mit wenig Wasser nach. Dann wäre die Lauge hinzuzubringen. Da aber die Mischung bei der Destillation stark stösst, so setzt man ihr vor der Lauge noch etwa 15 g (einen gehäuften Kaffeelöffel) Talk hinzu. Für 5 cc zur Zersetzung verwendete concentrirte Schwefelsäure genügen 40 cc der Lauge vollauf. Man schwenkt den Kolben einmal um und fügt ihn ohne Verzug an den Kautschukpfropfen des Dampfleitungsrohres; lässt man sich dazu Zeit, so ist ein Verlust an Ammoniak unausbleiblich. Dann erhitzt man, am Besten mit einem Pilzbrenner, und destillirt von der Flüssigkeit möglichst viel ab. Das Ende der Destillation wird durch das zuletzt doch eintretende starke Stossen der Flüssigkeit gegeben. Sobald man die Destillation abbricht, löst man das Dampfleitungsrohr von dem Kühler ab, um ein Rücksteigen der Flüssigkeit in den Kühler ganz sicher zu vermeiden.

Ob die zugesetzte Lauge für die Zerlegung des Ammonsulphats ausreicht, erkennt man an der Farbe der Flüssigkeit; bei Gegenwart von überschüssiger Lauge scheidet die anfangs blaue Flüssigkeit schwarzes Kupferoxyd ab.

Der von Argutinsky empfohlene Zusatz von Talk mindert von allen vorgeschlagenen Mitteln das Stossen am Besten. Statt Talk lassen sich auch kleine Stücke von Zink verwenden; die dann stattfindende schwache Wasserstoffentwicklung bewirkt, dass das Sieden ruhiger vor sich geht. Zinkstaub ist wegen eines möglichen Gehalts an Ammoniak, worauf Robineau u. Rollin[1]) aufmerksam machen, für diesen Zweck nicht verwendbar.

Nach Beendigung der Destillation wird der Pfropfen an der Vorlage gelockert, die Kühlschlange einmal mit Wasser durchgespült, das Perlrohr, dessen Ende noch in die Vorlage hineinreicht, gut mit Wasser gewaschen, dann das senkrechte Rohr aus der Flüssigkeit herausgehoben und innen und aussen gut abgespült.

Endlich ist noch die freie Schwefelsäure mit der Zehntelnormallauge unter Zusatz von neutraler Lackmuslösung in der § 53. II. 2. a. (S. 658) angegebenen Art zurückzutitriren.

Von den Farbenindicatoren halte ich die neutrale Lackmuslösung für diesen Zweck noch für den besten. Methylorange, bei einigermaassen concentrirten Lösungen vorzüglich, versagt bei Verdünnungen, wie sie das Destillat besitzt. Alizarinroth ist nicht empfindlich genug. Phenolphtalein ist bei Gegenwart von Ammoniak nicht brauchbar. Argutinsky sowie Stohmann verwenden Cochenilletinctur, Kumagawa[2]) (10 Tropfen) eine einprocentige Congorothlösung.

Von einem mir unbekannt gebliebenen Autor ist als Indicator salicylsaures Eisenoxyd vorgeschlagen worden. Die Lösung des Salzes färbt das Destillat wegen seines Gehalts an Säure nicht so stark wie Wasser, beim Zurücktitriren wird daher die Flüssigkeit gegen das Ende hin stärker violett. Man setzt so lang Lauge zu,

---

[1]) P. Argutinsky, Pflüger's Archiv **46**. 33. 1890. — F. Robineau u. G. Rollin, Moniteur scientif. [4] **7**. 138; Ztschr. f. analyt. Ch. **33**. 594.

[2]) Argutinsky, a. a. O. — Stohmann, Journ. f. prakt. Ch. [2] **44**. 340. 1891. — Kumagawa, Mittheilungen der med. Fak. der kaiserl. Japanischen Universität zu Tokio **3**. 10. 1894.

bis die Färbung rein citronengelb geworden ist. Das Reagens ist empfindlich. Aber man hat es dem Destillat aus einer Burette zuzumessen und von der verbrauchten Lauge diejenige Menge abzuziehen, welche erforderlich ist, um das verwendete Volumen Salicylat zu entfärben. Auch setzt sich aus der frischbereiteten Lösung das Salz bald in Krystallen ab und die Lösung wird sehr schwach.

Statt das Ammoniak acidimetrisch zu bestimmen, hat Pennink[1]) das abdestillirte Ammoniak in Salzsäure aufgefangen, die Flüssigkeit zur Trockne verdunstet, im Salzrückstand das Chlor mit Silberlösung titrirt und aus der Menge des Chlors die des Stickstoffs berechnet.

Bei der Bestimmung nimmt das Destilliren die meiste Zeit in Anspruch. Um in dieser Hinsicht Zeit zu sparen, sowie auch um den Fehler zu vermeiden, welcher durch das Auflösen von Alkali aus dem Glas durch das heisse Destillat eintreten kann, haben Henninger, Bayrac, Baumann, Schönherr, Saugeron, Petit und Monfet[2]) u. A. im Oxydationsprodukt durch Zusatz von Bromlauge den Stickstoff azotometrisch bestimmt.

Das Reactionsprodukt wird in Wasser gelöst, die Lösung auf ein rundes Volumen (50 cc) aufgefüllt und von ihr eine abgemessene Menge (10 cc) zur Bestimmung verwendet. Die Bromlauge soll auf eine alkalische Lösung einwirken, und man hat daher die Flüssigkeit vor dem Auffüllen auf das runde Volumen annähernd (mit Natriumcarbonat oder Natriumhydrat) zu neutralisiren, oder man nimmt besser die Neutralisation im Azotometer selbst vor, in der Weise, dass man der Bromlauge noch so viel Natronlauge hinzufügt, als erforderlich wäre, um die im abgemessenen Volumen enthaltene Schwefelsäure zu übersättigen. Auf 1 cc des im abgemessenen Volumen enthaltenen Harn setzt man 10 cc Bromlauge zu (eine mit 25 cc Brom versetzte Lösung von 100 g Natriumhydrat in 250 cc Wasser). Die Stickstoffentwicklung geht in ungefähr 10 Min. zu Ende. Das Volumen des entwickelten Stickstoffs wird auf 0^0 und 760 mm Quecksilberdruck reducirt, und das Gewicht des Stickstoffs in g durch Multiplication der berechneten cc mit 0,0012566 gefunden. Die Bestimmung ist wegen der Löslichkeit des Stickstoffs in dem als Sperrflüssigkeit dienenden Wasser, oder weil sich nicht alles Ammoniak zersetzt, mit Verlusten verbunden, welche (bei der Zersetzung von Salmiak) nach Knop 3%, nach Ostwald[3]) constant 4,2% betragen. Darnach wäre die gefundene Stickstoffmenge zu corrigiren.

Um die umständliche und wegen des Stickstoffverlustes unsichere Berechnung des Stickstoffs zu umgehen, empfiehlt Henninger, das Azotometer durch die Analyse bekannter Mengen Ammonsulphat zu aichen.

Für diese azotometrische Bestimmung darf zur Beschleunigung der Oxydation kein Kupfersulphat angewendet werden, weil dieses nach Moreigne[4]) bei Zusatz der Bromlauge einen Niederschlag von Kupfersuperoxyd bildet und sich darnach neben und nach dem Stickstoff noch Sauerstoff entwickelt. Ebenso verbietet sich Verwendung von Quecksilber für denselben Zweck; das sich ausscheidende Tetraammon-

---

1) J. J. Pennink, Ztschr. f. Biol. **24**. 367. 1887.

2) A. Henninger, Comptes rendus de la Soc. de Biol. 1884. 474; Jahresb. f. Thierch. 1884. 205. — H. P. Bayrac, Thèse, Lyon 1887; Bull. de la Soc. chim. [3] **11**. 1141. 1894. — A. Baumann, Landwirthsch. Versuchsstationen **33**. 253. 1887. — O. Schönherr, Chemiker-Ztg. **12**. 217; Chem. Centralbl. 1888. 420. — M. Saugeron, Arch. de Pharm. **3**. 1; Ztschr. f. analyt. Ch. **29**. 353. 1889. — A. Petit u. L. Monfet, Journ. de pharm. et de chimie [5] **27**. 297. 1893; Chem. Centralbl. 1893. **1**. 856.

3) W. Ostwald, Journ. f. prakt. Ch. [2] **27**. 10. 1883.

4) H. Moreigne, Bulletin de la Soc. chim. [3] **11**. 959. 1894.

sulphat zersetzt sich sehr langsam unter Entwicklung von Stickstoff und Sauerstoff. Beendet man die Oxydation durch Zusatz von Permanganat, so darf dieser nur gering sein, weil sich durch die Lauge ein Niederschlag von Manganoxyd bildet, welcher, wenn er in grosser Menge vorhanden ist, das Entweichen des Stickstoffs erschwert. Kaliumsulphat dürfte die einzige zur Beförderung der Oxydation zulässige Substanz sein. Ohne solche Mittel nimmt die vollständige Oxydation mindestens so viel Zeit in Anspruch als die Destillation, und die azotometrische Bestimmung ist dann in dieser Hinsicht nicht vortheilhafter als die acidimetrische.

§ 75. Bestimmung des Cystins.

Das Cystin lässt sich zwar aus seiner Lösung in Alkalihydrat durch Essigsäure nahezu vollständig fällen, nicht so aber aus Harn; von 220 mg in normalem Harn gelöstem Cystin fand Mester[1]) auf diese Weise nur 9 mg wieder. Auch die spontane Ausscheidung des Cystins ist nicht quantitativ. Man hat daher versucht, das Cystin indirekt zu bestimmen.

1. Bestimmung als Benzoylcystin.

v. Udránszky und Baumann[2]) geben dazu folgende Vorschrift.

Die Tagesmenge Harn wird mit 200 cc 10 proc. Natronlauge versetzt und mit 20—25 cc Benzoylchlorid so lang geschüttelt, bis der Geruch des Chlorids verschwunden ist. Das Filtrat wird mit Schwefelsäure stark angesäuert und dreimal mit seinem Volumen Aether ausgeschüttelt. Nach dem Abdestilliren des Aethers wird der noch flüssige Destillationsrückstand mit Natronlauge neutralisirt, mit 3—4 Vol. 12 proc. Natronlauge vermischt und in die Kälte gestellt, wonach sich die Natronverbindung des Benzoylcystins (neben der der Benzoyldiamine § 29. S. 261) in Nadeln und Plättchen abscheidet. Nach 12—24 Stunden werden die Krystalle abgesaugt, mit wenig kalter Natronlauge und darauf mit kaltem Wasser gewaschen, wobei das Benzoylcystin in Lösung geht. Aus der Lösung fällt das Benzoylcystin auf Zusatz von Salzsäure als Gallert aus; diese wird abgesogen, getrocknet und gewogen. — Nach García[3]) genügt zum Fällen des Benzoylcystin-Natrons 1 Vol. der Lauge.

Von 0,476 g Cystin, welche v. Udránszky und Baumann 1 Ltr. normalem Harn zugesetzt hatten, wurden beim Behandeln des Harns mit 120 cc 10 proc. Natronlauge und 10 cc Benzoylchlorid nur 40 % des Cystins als Benzoylcystin wieder gewonnen. Nach Mester[4]) hängt die Ausbeute davon ab, dass gleich anfangs das Benzoylchlorid und die Lauge im richtigen Verhältniss zum Cystin angewendet wird, ein erheblicher Ueberschuss ist zu vermeiden, und dann wenigstens das Siebenfache des Benzoylchlorids von der Lauge, und zwar auf einmal zuzusetzen. So wurde aus einer 1 g Cystin enthaltenden Lösung 1,7 g Benzoylcystin statt der berechneten 1,87 g gewonnen.

2. Bestimmung nach dem Gehalt des Harns an neutralem Schwefel.

Wegen der geschilderten Unsicherheiten der Bestimmung des Cystins empfiehlt Mester[5]) als Ersatz eines genauen Verfahrens den nicht oxydirten Schwefel in (25 cc) Cystinharn in Procenten des Gesammt-

---

[1]) B. Mester, Ztschr. f. physiol. Ch. **14**. 113. 1889.
[2]) L. v. Udránszky u. E. Baumann, daselbst **13**. 564. 1889.
[3]) S. A. García, daselbst **17**. 584. 1893.
[4]) v. Udránszky u. Baumann, daselbst **15**. 87. — Mester, a. a. O. 117.
[5]) Mester, a. a. O. 118.

schwefels zu bestimmen und von der gefundenen Menge 17,2 % abzuziehen, so viel, als nach seinen eigenen Ermittelungen, sowie denen von Salkowski, Lépine und Stadthagen der unoxydirte Schwefel des normalen Harns beträgt. Der gefundene Schwefel wäre dann als Cystin zu berechnen.

§ 76. Bestimmung des Harnstoffs.

Das einfachste Verfahren zur Ermittelung der Menge des im Harn enthaltenen Harnstoffs beruht auf der Zerlegung desselben in Kohlensäure und Ammoniak und der alkalimetrischen Bestimmung des Ammoniaks. Man verwendet dazu den Harn, nachdem man ihn durch Phosphorwolframsäure (Pflüger, Gumlich) oder durch Baryt und Aetheralkohol (Mörner und Sjöqvist) von allen anderen stickstoffhaltigen Substanzen so vollständig als möglich befreit hat und ermittelt den im Filtrat vorhandenen Harnstoff durch eine Ammoniakbestimmung oder man zerlegt den Harnstoff direkt im Harn durch Ueberhitzen des Harns (Cazeneuve u. Hugounenq) oder durch Harnstoffferment (Miquel).

Die Bestimmung des Harnstoffs nach Hüfner aus dem Volumen Stickstoff bei der Einwirkung von Bromlauge auf Harn (§ 32. A. 15. S. 304), welche in Camerer zuletzt noch einen Vertreter gefunden hat, ist insofern unsicher, als der Harnstoff nicht vollständig zersetzt wird, das Deficit abhängig ist von den Versuchsbedingungen, und als noch andere Harnbestandtheile bei dieser Reaction Stickstoff liefern. Das principielle Bedenken wird auch nicht dadurch beseitigt, wenn statt des unterbromigsauren Salzes eine Lösung von Brom in Bromkalium (Beugnies-Corbeau), oder Natriumhypochlorit (Squibb, Oechsner de Coninck), oder ein Gemeng von Bromwasserstoff und Hypochlorit (Bartley) angewandt wird. Ein Zusatz von Cyanat beseitigt zwar nach Allen[1]) bei reinen Harnstofflösungen das Stickstoffdeficit, vielleicht auch im Harn, aber wohl nicht den Zuwachs an Stickstoff aus anderen Harnbestandtheilen. Ueber die Einzelheiten des Verfahrens von Hüfner und verschiedene andere von diesem abgeleitete Methoden vgl. dieses Werk, 9. Aufl. 527.

In ähnlicher Weise ist die Bestimmung des Harnstoffs versucht worden durch Zersetzung mit salpetriger Säure (Millon'sches Reagens; § 32. A. 14. S. 302) von Millon selbst, von Gréhant und von Campari; Riegler[2]) hat nach Art des Azotometers einen Apparat zusammengestellt, welcher diesem Zwecke dienen soll. Die Zersetzung verläuft auch hier nicht genau nach der theoretischen Voraussetzung, und wie sich der Harn dabei verhält, müsste noch untersucht werden.

---

[1]) W. Camerer, Ztschr. f. Biol. 28. 101. 1891; 29. 239. 1893. — Beugnies-Corbeau, Gazette méd. de Paris 38. 1891; Jahresb. f. Thierch. 1892. 188. — E. R. Sqibb, Journ. of the analyt. Chem. 6. 216; Chem. Centralbl. 1892. 2. 270. — Oechsner de Coninck, Comptes rendus de la Soc. de Biol. [10] 1. 457. 1894; Chem. Centralbl. 1894. 2. 818. — E. H. Bartley, Journ. of the Amer. chem. Soc. 12. 283; Chem. Centralbl. 1891. 1. 168. — A. K. Allen, Chem. News 73. 103; Chem. Centralbl. 1896. 1. 829.

[2]) Millon, Comptes rendus 26. 115. — Gréhant, daselbst 75. 143. — G. Campari, Ann. di chim. e di farmacol. [4] 5. 156; Ber. d. chem. Gesellsch. 21. Ref. 369. 1888. — E. Riegler, Ztschr. f. analyt. Ch. 33. 49. 1894; Wiener med. Blätter 21. 1896; Chem. Centralbl. 1896. 2. 812.

I. Verfahren nach Pflüger.

A. Princip. Fällt man Harn mit Phosphorwolframsäure (und Salzsäure) aus und erhitzt das Filtrat (nach Bunsen) mit alkalischer Chlorbaryumlösung, so liefert es, wie Pflüger in Gemeinschaft mit Bohland und Bleibtreu[1]) nachgewiesen hat, ebenso wie der Harnstoff auf 2 Mol. H_3N genau 1 Mol. CO_2. Für diesen Versuch muss dann im Filtrat bereits enthaltenes Ammoniak gesondert bestimmt werden. Der Harnstoff wird in der Concentration (bis 2 % wenigstens), in welcher er gewöhnlich im menschlichen Harn vorkommt, durch Phosphorwolframsäure nicht niedergeschlagen (§ 32. A. 4. d. S. 295). Das Filtrat ist jedoch nach Bohland keineswegs frei von anderen stickstoffhaltigen Harnbestandtheilen; es enthält u. a. noch Hippursäure; die Oxyproteinsäure wird durch Phosphorwolframsäure nicht gefällt (§ 43. V. B. 3. S. 460) und die Fleischsäure unvollständig (§ 30. V. B. 6. S. 287) und darum erhält man aus dem Filtrat bei einer gewöhnlichen Stickstoffbestimmung mehr Stickstoff als nach dem Verfahren von Bunsen.

B. Erfordernisse.

1. Eine 10proc. Lösung von Phosphorwolframsäure (S. 255) mit 0,1 Vol. Salzsäure von 1,124 Dichte.
2. Eine Lösung von 250 g Natriumhydrat im Liter.
3. Talk.
4. Viertelnormalschwefelsäure.
5. Zehntelnormalnatronlauge.

2—5 wie bei der Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl § 74. B. 4—7. S. 801.

C. Ausführung. Man hat zuerst zu ermitteln, wie viel von der salzsäurehaltigen Phosphorwolframsäure erforderlich ist, um ein abgemessenes Volumen Harn gerade auszufällen. Ein Ueberschuss der Säure ist zu vermeiden, da sich sonst nach Gumlich und nach Schmied[2]) stickstoffhaltiger Niederschlag wieder auflöst. Der Harn soll höchstens 2 % Harnstoff enthalten, weil nach den Erfahrungen von Mörner und Sjöqvist[3]) sonst zu befürchten ist, dass auch Harnstoff mit niedergeschlagen wird. Gumlich verdünnt daher Harn, der eine grössere Dichte als 1,017 besitzt, in entsprechendem Maasse.

Zur Ermittelung der erforderlichen Menge Phosphorwolframsäure verfährt man am Besten in der Weise, dass man zu einer abgemessenen Menge (10 cc) Harn die Säurelösung aus einer Burette zumisst (Gumlich). Man lässt die Mischung 5 Min. stehen, filtrirt dann eine Probe ab, versetzt sie auf 1 cc mit 3 Tropfen der Säurelösung und sieht zu, ob binnen 2 Min. eine Trübung eintritt (Pflüger).

---

[1]) Pflüger u. Bohland, Pflüger's Archiv **38**. 575. 1886. — Bohland, daselbst **43**. 30. 1888. — Pflüger u. L. Bleibtreu, daselbst **44**. 10 u. 57. 1889.
[2]) G. Gumlich, Ztschr. f. physiol. Ch. **17**. 15. 1892. — H. Schmied, nach Kossel, Dubois' Archiv 1894. 552.
[3]) K. A. H. Mörner u. J. Sjöqvist, Skandin. Archiv **2**. 465. 1891.

Bleibt sie aus, so ist entweder der Säurezusatz richtig getroffen oder schon überschritten und man hat sich darüber mit einer neuen Probe Harn Aufschluss zu verschaffen. Tritt in der abfiltrirten Probe noch ein Niederschlag ein, so giesst man die Probe zur Hauptmenge zurück und fährt mit dem Zusatz der Phosphorwolframsäure fort, bis die Endreaction ausbleibt. Man hat dann den Versuch mit einer frischen Probe Harn zu wiederholen, wobei man den ersten Zusatz von Phosphorwolframsäure etwas geringer bemisst, als man bei dem ersten Versuch im Ganzen verbraucht hat. Für normalen Harn genügen in der Regel 2 Vol. der Säurelösung auf 1 Vol. Harn (Pflüger), für unverdünnten pathologischen Harn ist aber oft erheblich mehr (bis 9 Vol.) erforderlich (Mörner u. Sjöqvist).

In dem ermittelten Verhältniss versetzt man den wenn nöthig verdünnten Harn, lässt ihn zur völligen Abscheidung des Niederschlags in einem verschlossenen Gefäss 24 Stunden stehen und filtrirt dann den Niederschlag durch ein trockenes Filter ab. Da das im Niederschlag befindliche phosphorwolframsaure Ammon von einem gewöhnlichen Filter nicht vollständig zurückgehalten wird, so hat man sich, wenn man diesen Zweck erreichen will, nach Gumlich eines doppelten Filters aus ächtem schwedischen Papier (Munktell No. 1) zu bedienen und das Filtrat so oft wieder auf dasselbe Filter aufzugiessen, bis die Flüssigkeit völlig klar abläuft; die Filtration geht dabei langsam von Statten. Eine Filtration durch Asbestwolle wäre diesem Verfahren vorzuziehen. Andernfalls hat man mit einem abgemessenem Volumen Filtrat, wozu Pflüger nur 15 cc verwendet, eine Ammoniakbestimmung nach Schlösing (§ 62. 2. I. S. 742) auszuführen, die gefundene Ammoniakmenge auf das Volumen zu berechnen, welches man für die Stickstoffbestimmung verwendet und von dem gefundenen Stickstoff abzuziehen.

Von dem Filtrat misst man ein etwa 5 cc Harn enthaltendes Volumen ab und kocht es nach Pflüger 6—8 Stunden mit 300—400 cc der concentrirten Lauge (2). Im Uebrigen verfährt man wie bei der Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl (S. 801). Es ist 1 g Stickstoff = $\frac{15}{7}$ oder 2,143 g Harnstoff. Die vollständige Zersetzung des Harnstoffs ist auf diese Weise schwer zu erreichen; das schneller und sicherer zum Ziele führende Verfahren von Kieldahl ist nicht anwendbar, weil das Filtrat ausser dem Harnstoff noch andere stickstoffhaltige Substanzen enthält.

Oder das abgemessene Filtrat wird in einem Destillationskolben mit beiläufig 10 g krystallisirter Phosphorsäure oder der entsprechenden Menge concentrirter flüssiger Phosphorsäure versetzt und der Kolben (in einem entsprechend grossen Trockenkasten) 3 Stunden lang auf 230—260° erhitzt. Nach dem Erkalten wird der theerartige Rückstand durch Zusatz von Wasser verflüssigt, mit 70 cc Natronlauge von 1,3 Dichte (mit 21% NaHO) und 500—600 cc Wasser versetzt und der Destillation unterworfen, nachdem der entstandene Nebel aus dem Kolben vollständig verschwunden ist. Die Phosphorsäure lässt sich nicht durch Schwefelsäure ersetzen, weil diese oxydirend wirken würde, was vermieden werden soll.

Nach diesem Verfahren findet man bei der Verwendung von Menschenharn nach Pflüger im Mittel 2,3 % (0,3—6,4 %) Stickstoff weniger, als bei der Zersetzung mit ammoniakalischer Chlorbaryumlösung nach Bunsen-Pflüger, so dass das Verfahren für die Harnstoffbestimmung brauchbar erscheint.

Der Versuch wird sich nur selten so einrichten lassen, dass man mit dem Filtrat genau 5 cc Harn abmisst. Liegt Einem daran, so kann man die Mischung von Harn und Phosphorwolframsäure durch zehnfach verdünnte Salzsäure auf ein rundes Volumen auffüllen, so dass sich dann die 5 cc Harn enthaltende Menge des Filtrats abmessen lässt.

Gumlich unterwirft das Filtrat der Oxydation durch Schwefelsäure nach Kjeldahl. Dadurch wird an Zeit gespart, aber man erhält so ausser dem Stickstoff des Harnstoffs noch den der anderen durch die Phosphorwolframsäure nicht gefällten stickstoffhaltigen Harnbestandtheile. In diesem Fall ist darauf zu achten, dass die Phosphorwolframsäure frei von Salpetersäure ist, da man sonst nach Mörner u. Sjöqvist[1]) zu viel Stickstoff findet.

II. Verfahren nach Mörner und Sjöqvist.[2])

A. Princip. Aus Harn, der in einem bestimmten Verhältniss mit Chlorbaryum und Baryumhydrat versetzt ist, werden durch Aether-Alkohol alle stickstoffhaltigen Substanzen, ausser dem Harnstoff gefällt. Auch die im Harn enthaltene Oxyproteinsäure stört nach Töpfer die Bestimmung nicht. Im Filtrat wird der Stickstoff nach Kjeldahl bestimmt. Das Verfahren liefert nach Mörner und Sjöqvist mit dem von Bunsen-Pflüger übereinstimmende Resultate, und nach Bödtker[3]) stören Ammonsalze, Harnsäure, Kreatinin und Hippursäure die Bestimmung nicht.

Mörner und Sjöqvist haben sich nicht des Kjeldahl'schen Verfahrens bedient, sondern mit 20 cc concentrirter Schwefelsäure erhitzt, bis die Flüssigkeit farblos oder nur schwach gelblich geworden war, was im Allgemeinen mehrere Stunden in Anspruch nahm. Es wird also auch oxydirt, nur langsamer.

B. Erfordernisse.

1. Eine gesättigte Chlorbaryumlösung mit 5 % Baryumhydrat.
2. Eine Mischung von 1 Vol. Aether mit 2 Vol. Alkohol von 97 %.
3. Die Erfordernisse zur Anstellung der Stickstoffbestimmung von Kjeldahl (§ 74. B.).

C. Ausführung. Es werden 5 cc eiweissfreier oder wenn nöthig enteiweisster Harn in einem Kölbchen mit 5 cc der Barytmischung und 100 cc Aetheralkohol vermischt und das Gemisch bis zum folgenden Tag verschlossen aufbewahrt. Dann wird der Niederschlag abfiltrirt, mit Aetheralkohol gewaschen, wozu bei Verwendung der Wasserstrahlpumpe 50 cc der Waschflüssigkeit genügen, das Filtrat zur Vertreibung des Ammoniaks mit etwas gebrannter Magnesia versetzt, der Aetheralkohol bei einer 60° nicht übersteigenden Temperatur, am

[1]) Mörner u. Sjöqvist, a. a. O. 470.
[2]) Mörner u. Sjöqvist, a. a. O. 440.
[3]) G. Töpfer, Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1897. 705. — E. Bödtker, Ztschr. f. physiol. Ch. 17. 146. 1892.

Besten bei 55° vertrieben und die auf ein kleines Volumen (10—15 cc) eingeengte Flüssigkeit der Stickstoffbestimmung nach Kjehldahl unterworfen. Aus der gefundenen Stickstoffmenge wird der Harnstoff in der Weise berechnet, dass die Stickstoffmenge mit $\frac{15}{7}$ oder 2,143 multiplicirt wird.

Ein Filter von 10 cm Durchmesser hat die passende Grösse zur Aufnahme des Barytniederschlags. — Steht eine Wasserstrahlpumpe zur Verfügung, so destillirt man den Aether-Alkohol unter vermindertem Druck ab. Ich filtrire die Harnstofflösung in Kjeldahl-Kolben und verwende sie zur Destillation; sie sind dickwandig genug, um den Atmosphärendruck auszuhalten. Wenn der Hals des Kolbens zu eng ist, um einen doppelt durchbohrten Kork mit Trichter und Saugrohr aufzunehmen, setze ich mit Kork in den Hals ein ⊢-Rohr ein, in dessen möglichst weiten senkrechten Theil mittelst Kautschukschlauch der Trichter eingefügt ist. Bei der darauf folgenden Destillation wird das ⊢-Rohr wieder verwendet. Die Flüssigkeit stösst dabei stark. Das lässt sich in bekannter Weise dadurch vermeiden, dass man während der Destillation einen schwachen Luftstrom durch die Flüssigkeit leitet. Zu diesem Zwecke setzt man in das ⊢-Rohr mit Kork ein capillar ausgezogenes, bis fast zum Boden des Kolbens reichendes Glasrohr ein, das am äusseren Ende einen kurzen Kautschukschlauch mit Bunsen'scher Klemme zur Regulirung des Luftstroms trägt. Der Kolben steht während der Destillation in einem Topf mit Wasser, welches auf die geeignete Temperatur gebracht ist. Die Vorlage, welche das Destillat aufnimmt, kühlt man durch Wasser, um den Dampf möglichst zu condensiren, weil sonst das Evacuiren in seiner Wirksamkeit beeinträchtigt ist. Wenn Alles in Ordnung ist, kann die Destillation in einer halben Stunde beendet werden.

Der Zusatz der gebrannten Magnesia darf nicht unterlassen werden, da sonst Ammonsalz im Destillationsrückstand bleiben kann. Es ist vortheilhaft, die Destillation möglichst weit zu treiben; enthält die Flüssigkeit noch Alkohol, so schwärzt sie sich bei der nachfolgenden Oxydation mit Schwefelsäure und wird nur langsam farblos; überdem schäumt sie stark.

Die Analyse lässt sich recht wohl auch ohne Wasserstrahlpumpe ausführen. Das Auswaschen des Barytniederschlags dauert dann länger und man verbraucht dazu mehr Aetheralkohol. Die Flüssigkeit wird, wie Mörner und Sjöqvist vorschreiben, nach Zusatz von gebrannter Magnesia und etwas Wasser in einer Schale eingedampft, die in 60° warmes Wasser taucht. Besitzen die entweichenden Dämpfe keine alkalische Reaction mehr, so setzt man einige Tropfen Schwefelsäure zu und engt bis auf 10—15 cc ein. Die Flüssigkeit wird dann in einen Kjeldahl-Kolben gegossen und die Schale mit Wasser nachgespült.

Dieses zweite Verfahren hat auch Bödtker[1]) mit einigen unwesentlichen Abänderungen beschrieben. Er versetzt nur 2,5 cc Harn mit 2,5 cc der Barytmischung und 75 cc Aetheralkohol; der Alkohol ist 70 proc. Das Filtrat wird, nach Zusatz von 0,5 g Magnesia bei 50—60° auf 20 cc eingedampft, dann nach Zusatz von 10 cc Schwefelsäure auf dem siedenden Wasserbad weiter eingeengt, bis keine Volumsabnahme mehr stattfindet und endlich in den Kjeldahl-Kolben gebracht.

III. Bestimmung durch Erhitzen mit Wasser.

1. Nach Cazeneuve und Hugounenq.

A. Princip. Wie sich Hugounenq[2]) überzeugt hat, wird Harnstoff beim Erhitzen seiner wässrigen Lösung auf 140° geradeauf zu kohlensaurem Ammon zersetzt. Das gebildete Ammoniak lässt sich

---

[1]) E. Bödtker, a. a. O.

[2]) L. Hugounenq, Comptes rendus 97. 48. 1883.

durch Titriren bestimmen und aus dem gefundenen Ammoniak der Harnstoff berechnen.

B. Ausführung. Cazeneuve und Hugounenq[1]) nehmen die Erhitzung in kleinen bronzenen Cylindern vor, welche innen galvanisch platinirt sind und durch einen aufschraubbaren Deckel verschlossen werden können. Eine Bleiplatte zwischen Cylinder und Deckel stellt die Dichtigkeit des Apparates her. Die Cylinder sind auf einen Druck von 60 Atmosphären geprüft. Sie werden aufrecht in ein Oelbad gestellt, welches auf 180° angeheizt wird und bleiben bei dieser Temperatur $^1/_2$ Stunde in demselben.

Für die Analyse des Harns werden 25—30 cc mit Thierkohle geschüttelt und filtrirt. Die Kohle entfärbt den Harn, normalen besser als den stark gefärbten Kranker und macht ihn, was die Hauptsache ist, neutral. Das Behandeln des Harns mit Thierkohle entzieht ihm keinen Harnstoff, wie vergleichende Bestimmungen mit frischem und mit Kohle behandeltem ergaben. Zuckerhaltiger Harn färbt sich zu dunkel, als dass er nach dem Erhitzen für die alkalimetrische Bestimmung noch geeignet wäre. Eiweisshaltiger muss vorher vom Eiweiss befreit werden.

Nachdem der Harn von der Kohle abfiltrirt ist, werden 10 cc des Filtrats mit 20 cc Wasser in einem Cylinder eingeschlossen, erhitzt, die Flüssigkeit nach dem Erkalten ausgespült und mit Normal-Schwefelsäure unter Verwendung von Methylorange oder Phenolphtalein titrirt. 1 cc der verbrauchten Säure zeigt 30 mg Harnstoff an.

In neun Bestimmungen mit reinem Harnstoff in 1,28—2,80 proc. Lösung wurde die Menge sechsmal ganz genau wieder gefunden, zweimal um 0,01 % zu wenig, einmal um 0,02 % zu viel.

Leucin, Tyrosin, Pepton, Harnsäure, Hippursäure, Xanthin liefern, wenn sie für sich oder mit Harnsalzen (phosphorsaures und schwefelsaures Natron, Chlornatrium einzeln und gemischt) in wässeriger Lösung erhitzt werden, kein kohlensaures Ammon; nur das Kreatinin bildet welches.

Wiewohl das Verfahren mit keiner der oben beschriebenen Methoden verglichen ist, dürfte es zur Bestimmung des Harnstoffs nach dem Ausfällen des Harns mit Phosphorwolframsäure ebenso geeignet sein als jene (vgl. III. 2.).

2. Nach Schmied.

Nach dem Bericht von Kossel[2]) erhitzt man 10 cc Harn mit Baryumcarbonat in einem zugeschmolzenen Glasrohre eine volle Stunde

[1]) P. Cazeneuve u. Hugounenq, Bull. de la Soc. chim. [2] 48. 82. 1887.
[2]) Kossel, Du Bois' Archiv 1894. 552.

auf 180°, bringt dann die Flüssigkeit in einen Destillirkolben, spült das Rohr mit Salzsäure und Wasser nach, macht mit Baryumhydrat alkalisch und destillirt das gebildete Ammoniak in ein abgemessenes Volumen Zehntelnormal-Schwefelsäure; die freie Säure wird zurücktitrirt (wie bei Kjeldahl, §. 74. S. 805). Das im Harn bereits als solches enthaltene Ammoniak wird gesondert bestimmt.

Bei Verwendung von Harn erhielt Schmied mit seinem Verfahren dieselben Resultate, wie nach dem Verfahren von Gumlich (S. 811), die nach Mörner und Sjöqvist gewonnenen Resultate waren etwas höher, die nach Cazeneuve und Hugounenq etwas niedriger.

Versuche mit einer Mischung von Harnstoff, Chlorammon und Extractivstoffen hatten nach dem Verfahren von Schmied und von Gumlich das gleiche Ergebniss. Pepton beeinflusst das Verfahren von Schmied nicht, ebensowenig Hippursäure und Harnsäure, aber Kreatin (und folglich auch Kreatinin) giebt bei dem Schmied'schen Verfahren etwas Ammoniak ab.

IV. Verfahren nach Miquel[1]).

Dem Vorschlag liegt die Thatsache zu Grunde, dass der Harnstoff durch das Enzym der urophagen Mikroben in kohlensaures Ammon zerlegt wird; dieses lässt sich alkalimetrisch bestimmen.

In wässeriger Lösung bestimmt man den Harnstoff so, dass man der Lösung das gleiche Volumen der klaren, enzymhaltigen Bouillon (§. 32. A. 13. S. 301. f.) hinzusetzt, die Mischung in einem fast ganz vollen Glas mit eingeschliffenem Stöpsel 2 Stunden bei 50° stehen lässt und das kohlensaure Ammon dann mit einer Säure titrirt. Man kann so noch einige Centigramm Harnstoff im Liter finden. Saurer Harn würde einen Theil des Ammoniaks binden und so der Titrirung entziehen. Um diesen Fehler zu vermeiden, soll man ihn in der Wärme mit einem kleinen Ueberschuss von kohlensaurem Ammon behandeln und das nach dem Erkalten hergestellte Filtrat verwenden.

§ 77. Bestimmung der Harnsäure.

I. Der reinen Harnsäure.

1. Acidimetrisch.

A. Princip. Die Harnsäure bildet nach Tunnicliffe[2]) mit Piperidin ein weisses krystallinisches einfach saures Salz $C_5 H_4 N_4 O_3 . C_5 H_{11} N$, welches mit Wasser von 15° eine 5,3 proc. Lösung bildet, in heissem Wasser noch leichter löslich ist, und gegen Lackmus schwach alkalisch, gegen Phenolphtalein aber neutral reagirt. Diese

1) P. Miquel, Comptes rendus 111. 501. 1890.
2) F. W. Tunnicliffe, British med. Journ. 27. Februar 1897.

Eigenschaften des Salzes haben Tunnicliffe u. Rosenheim[1]) zur quantitativen Bestimmung der freien Harnsäure benützt.

B. Erforderniss.

Eine $^1/_{20}$ normale Piperidinlösung. Dieselbe soll im Liter 4,25 g Piperidin enthalten. Man löst etwas mehr als die berechnete Menge reines Piperidin in 1 Liter Wasser und stellt die Lösung unter Verwendung von Phenolphtalein als Indicator auf $^1/_{20}$ oder $^1/_{10}$ normal Salzsäure. Der Cubikcentimeter zeigt 8,4 mg Harnsäure an.

C. Ausführung. Man erhitzt die Harnsäure, solche aus Harn, nachdem sie säurefrei gewaschen worden ist, in einem Kölbchen mit Wasser zum Sieden, wobei auf 0,1 g Harnsäure 15—20 cc Wasser genügen, setzt einige Tropfen Phenolphtalein zu und lässt die Piperidinlösung zufliessen. Das Ende der Reaction erkennt man daran, dass die Harnsäure in Lösung gegangen ist und die Flüssigkeit eine schwache Rothfärbung angenommen hat. Bei Harnsäure aus Harn ist wegen ihres starken Farbstoffgehaltes der Eintritt der rothen Färbung nur unsicher zu erkennen; den Farbstoff kann man aus der Harnsäure zwar theilweise durch Waschen derselben mit Alkohol entfernen, man thut aber gleichwohl gut, darauf zu achten, ob sich die Harnsäure ganz gelöst hat. Eine Verflüchtigung des Piperidins findet dabei nicht statt.

Die Bestimmung fällt sehr genau aus; bei reiner Harnsäure wurde im Mittel von 10 Bestimmungen 0,17 $^0/_0$ zu wenig gefunden; bei der aus Harn gefällten Harnsäure war die Abweichung von der Bestimmung durch Wägen etwas grösser.

2. Mit Permanganat.

A. Princip. Versetzt man eine Lösung von Harnsäure in warmer verdünnter Schwefelsäure mit Permanganatlösung, so verschwindet die Farbe des Permanganats anfangs sofort, zuletzt wird aber die Flüssigkeit auf Zusatz von Permanganat zwar nicht dauernd, aber doch einen Augenblick roth. Die Menge des Permanganats, welche bis zu diesem Endpunkt verbraucht wird, ist nach Blarez und Denigès[2]), aber nur in engen Grenzen, abhängig von dem Gehalt der Flüssigkeit an Schwefelsäure und der Verdünnung, bei einer Concentration der Harnsäurelösung von 1 : 8000 aber unabhängig vom Gehalt der Flüssigkeit an Schwefelsäure; dann zeigt 1 cc $^1/_{10}$ normal Permanganat nach Blarez und Denigès 7,4 mg Harnsäure an, und 1 Mol. Harnsäure verbraucht 1,135 At. Sauerstoff, ein Verhältniss, welches sich nicht durch eine einfache Zersetzungsgleichung ausdrücken lässt.

---

[1]) Tunnicliffe u. O. Rosenheim, Centralblatt f. Physiologie **11** 434. 1897.

[2]) Ch. Blarez und G. Déningès, Comptes rendus **104**. 789. 1887.

Auf 1 Mol. Harnsäure wird genau 1 At. Sauerstoff verbraucht, wenn in Wasser suspendirte Harnsäure durch Permanganat zu Allantoin (Claus) oder in kalter, alkalischer Lösung zu Uroxansäure (Sundwik[1]) oxydirt wird.

Unter den Bedingungen, unter welchen Hopkins die Titrirung der Harnsäure vornimmt, zeigt der cc $^1/_{20}$ n. Permanganat nach Hopkins 3,75, nach v. Ritter 3,61 mg Harnsäure an. Die Verschiedenheit des Titers dürfte darin begründet sein, dass Hopkins die Permanganatlösung durch Wägen bereitete, v. Ritter[2]) auf Eisen oder Tetraoxalat stellte.

B. Erforderniss.

Eine $^1/_{20}$ normale Permanganatlösung mit 1,581 g Permanganat im Liter: sie wird auf eine $^1/_{20}$ normale Oxalsäure- oder Tetraoxalatlösung gestellt, wie bei der Herstellung der Lösung zur titrimetrischen Bestimmung des Eisens (§. 62. 4. I. 1. S. 751); die verwendete Oxalsäure muss aschefrei sein (S. 657). Der Titer der Lösung ändert sich leicht beim Aufbewahren und er ist daher öfters aufs Neue zu ermitteln.

C. Ausführung. Die Harnsäure wird heiss in möglichst wenig chloridfreiem Natriumcarbonat gelöst, die Lösung nach dem Erkalten mit Wasser auf 100 cc aufgefüllt, darauf mit 20 cc concentrirter Schwefelsäure versetzt und sogleich mit der Permanganatlösung titrirt. Bei Verwendung reiner Harnsäure in Mengen, wie sie in 100 cc normalem Harn vorkommen (ungefähr 50 mg) fällt die Titrirung auf 0,5 mg genau aus. Auch in Ammonurat lässt sich auf diese Weise die Harnsäure titriren (II. 2.).

Um sich eine richtige Vorstellung von der Endreaction zu verschaffen, thut man gut, abgewogene Mengen reiner Harnsäure nach diesem Verfahren zu titriren; man weiss dann im Voraus, bei welchem Verbrauch an Permanganat sie eintritt. Die nach Bensch (§. 33. C. 1. S. 326) gereinigte, salzfrei gewaschene Harnsäure ist dazu vollkommen geeignet.

3. Als Silber-Magnesiumsalz.

Versetzt man eine alkalische Harnsäurelösung zugleich mit ammoniakalischer Silberlösung und Magnesiamischung, so fällt ein Urat aus, welches auf 1 Mol. Harnsäure 1 At. Silber enthält. Die in dem Niederschlag enthaltene Menge Harnsäure lässt sich in verschiedener Weise direkt und indirekt ermitteln.

---

[1]) Claus, Berichte d. chem. Gesellsch. 7. 227. 1874. — E. E. Sundwik, Ztschr. f. physiol. Ch. 20. 335. 1894.

[2]) F. Gowland Hopkins, Guy's Hospital Reports 48 299. 1891; Journ. of Pathol. and Bacteriology 1. 455. 1892; Proc. of the London roy. Soc. 52. 96. 1892. — G. v. Ritter, Ztschr. f. physiol. Ch. 21. 290. 1895.

1. Man zerlegt das Urat durch Digestion mit Natrium- oder Kaliumsulphhydrat in der Wärme, säuert das Filtrat, welches die Harnsäure als Alkalisalz enthält, mit Salzsäure an und dampft zur Krystallisation ein. Die ausgeschiedene Harnsäure kann gewogen oder ihre Menge durch Titriren nach I. 1. oder 2. bestimmt werden. Dieses Verfahren ist die Grundlage der Bestimmung der Harnsäure im Harn nach Ludwig und ist unter II. 1. ausführlich beschrieben.

2. Durch Bestimmung des im Niederschlag enthaltenen Stickstoffs (a).

3. Durch Ermittelung seines Gehalts an Silber (b).

4. Durch Zurücktitriren des in Lösung gebliebenen Ueberschusses an Silber (c).

a. Durch Bestimmung des Stickstoffgehalts.

Der gelatinöse Niederschlag wird auf einem kleinen Filter gesammelt, und, wie § 78. B. 2. angegeben ist, ammoniakfrei gewaschen. Dieser Niederschlag lässt sich aber nicht ohne Weiteres für die Stickstoffbestimmung verwenden, denn er enthält, wie Salkowski gezeigt hat, noch Ammoniak in nicht zu vernachlässigenden Mengen. Von diesem Ammoniak lässt sich der Niederschlag aber nach Arnstein[1]) mit Leichtigkeit vollständig befreien, wenn man ihn (sammt Filter) mit Wasser und etwas Magnesia kocht. Die Stickstoffbestimmung wird nach Kjeldahl (§ 74. S. 801) vorgenommen. Durch Multiplication der gefundenen Stickstoffmenge mit 3 erfährt man die Menge der Harnsäure. Man findet nach Arnstein einige (ungefähr 3) Procent zu wenig Harnsäure, offenbar weil das Urat nicht ganz unlöslich ist. Die Bestimmungen ergeben aber dieselben Werthe wie die nach b.

Das Verjagen des Ammoniaks durch die Magnesia nimmt man im Kjeldahlkolben vor; erst nachdem das Wasser bis auf einen kleinen Rest weggekocht ist, setzt man die oxydirenden Reagentien zu (10 cc Schwefelsäure, 5 g Kaliumsulphat und 0,5—1 g Kupfersulphat).

b. Durch Bestimmung des Silbergehalts.

Das Verfahren, welches Salkowski[2]) zur Bestimmung des Silbergehalts in den Silberverbindungen der Xanthinbasen angegeben hat, lässt sich nach Arnstein auch auf den Silberniederschlag der Harnsäure anwenden. Der Niederschlag wird silber- und chlorfrei gewaschen, das Filter getrocknet und in einem Porzellantiegel verascht. Dann wird das gebildete metallische Silber mit Wasser und chlorfreier Salpetersäure übergossen und das Silber durch Erwärmen im

[1]) E. Salkowski, Pflüger's Archiv 69. 273. 1898. — Arnstein, Centralbl. f. d. med. Wissensch. 15. 1898. 257.
[2]) Salkowski, a. a. O. 282. — Arnstein, a. a. O.

Wasserbad zur Lösung gebracht. Den Tiegel hält man dabei mit einem Uhrglas bedeckt. Das Silber löst sich bis auf einen unbedeutenden Rest (nach Salkowski Chlorsilber, wohl auch Cyansilber). Man spritzt das Uhrglas ab, überträgt die Lösung in ein Kölbchen und titrirt das Silber nach Volhard (§ 61. B. I. S. 705) mit Rhodanammon zurück. Man richtet die Concentration der Rhodanlösung nach der Menge des zu erwartenden Silbers (der Harnsäure) ein; 1 cc $^1/_{20}$ n Rhodanlösung zeigt 8,4 mg Harnsäure an. Das Silber zu wägen statt zu titriren, empfiehlt sich nicht, weil man zu grosse Werthe findet. Das Verfahren giebt mit dem nach a. so gut wie identische Werthe.

c. Durch Zurücktitriren des Silberüberschusses.

A. Princip. Bei diesem Verfahren wird die Fällung der Harnsäure durch Zusatz einer bekannten Menge Silbernitrat ausgeführt. Das in Lösung gebliebene Silber bestimmt man nach einem von Denigès[1]) angegebenen Verfahren, welches die Titrirung von Silber in ammoniakalischer Lösung gestattet. Dasselbe ist der Titration des Cyankaliums durch Silberlösung nachgebildet. Versetzt man bei dieser eine chloridhaltige Cyankaliumlösung mit Silbersalz, so bildet sich bekanntlich zunächst das lösliche Salz AgCN, KCN, und erst wenn alles Cyankalium in diese Verbindung übergeführt ist, entsteht auf weiteren Zusatz von Silberlösung eine Trübung von Chlorsilber. Denigès verfährt nun so, dass er die ammoniakalische Silberlösung mit einem Ueberschuss von Cyankalium versetzt und den Ueberschuss mit Silberlösung unter Zuhilfenahme von Jodkalium als Indicator zurücktitrirt. Wenn von dem Silbersalz mehr zugesetzt wird, als für das Doppelsalz erforderlich ist, so bildet sich das in Ammoniak unlösliche Jodsilber, wodurch das Ende der Reaction angezeigt wird. Sind die Lösungen auf einander gestellt, so giebt diejenige Menge Silberlösung, welche zum Zurücktitriren der Cyankaliumlösung verbraucht wird, auch die Menge der zur Bindung der Harnsäure verbrauchten Silberlösung an. Wegen der wenn auch geringen Löslichkeit des Jodsilbers in Ammoniak hat man nur darauf zu achten, dass bei der Titrirung der Harnsäure die Lösung nahezu so viel Ammoniak und Jodkalium enthält, als bei der Titerstellung der Lösungen, wobei es mehr auf den absoluten Gehalt der Lösung an Ammoniak ankommt, als auf den relativen. Dieser Bedingung wird in der folgenden nach Versuchen von Arnstein abgeänderten Vorschrift entsprochen.

B. Erfordernisse.

1. Fünfzigstelnormal-Silberlösung (mit 3,4 g Silbernitrat im Liter); der cc zeigt 3,36 mg Harnsäure an.

---

[1]) G. Denigès, Comptes rendus **117**. 1078. 1893; Bulletin de la Soc. chim. [3] **11**. 226. 1894.

Die von Denigès vorgeschriebene $^1/_{10}$ n-Silberlösung erscheint zu concentrirt; 1 cc derselben zeigt 16,8 mg Harnsäure an, und ein Tropfen, 20 zu 1 cc gerechnet, 0,84 mg; der Titrirungsfehler könnte zu gross ausfallen und wir haben an Stelle der $^1/_{10}$ n-Silberlösung eine $^1/_{50}$ normale gesetzt. Eine andere Silberlösung zum Fällen des Harns zu verwenden wie zum Titriren, kann zu einer Fehlerquelle werden.

2. Magnesiamischung. Nach Denigès soll man 150 g Salmiak und 100 g Chlormagnesium zunächst in ungefähr 750 cc (20 proc.) Ammoniak lösen, darnach mit Ammoniak (von derselben Stärke) auf 1 Ltr. auffüllen und filtriren. Mit der Magnesiamischung werden 750 cc der $^1/_{50}$ n Silberlösung auf 900 cc aufgefüllt; 75 cc der silberhaltigen Mischung enthalten 62,5 cc der Silberlösung. — Denigès giebt Nichts über die Concentration des Ammoniaks an; aber bei dem Vermischen der Magnesialösung mit der Silberlösung darf kein Chlorsilber ausfallen, was bei Verwendung von 10 proc. Ammoniak nicht der Fall ist.

3. Eine 20 proc. Jodkaliumlösung, welche, um sie farblos zu erhalten, mit 2 % Ammoniak versetzt wird.

4. Eine Cyankaliumlösung, von welcher 10 cc 25 cc der Silberlösung entsprechen, von Denigès als $^1/_{20}$ normal bezeichnet. Es werden 10 g reines Cyankalium in ungefähr 1 Ltr. Wasser gelöst, die Lösung mit 10 cc (20 proc.) Ammoniak versetzt und filtrirt. Der Ammoniakzusatz macht die Lösung haltbarer. Zur Titerstellung misst man 20 cc der Lösung mit einer Burette ab, verdünnt mit 100 cc Wasser, fügt 10 cc 20 proc. Ammoniak und einige (10) Tropfen der Jodkaliumlösung hinzu, und lässt Silberlösung bis zur bleibenden schwachen Trübung zufliessen. Darnach wird die Lösung auf die angegebene Verdünnung gebracht; das Volumen beträgt dann gegen 1,5 Ltr. Der Titer der Lösung ist öfter zu prüfen.

C. Ausführung. Man löst die Harnsäure (oder das harnsaure Ammon, wenn die Harnsäure als dieses Salz gewonnen wurde) unter Erwärmen in kohlensaurem Natron, giesst die Lösung in einen Maasscylinder und spült das Kölbchen gut nach. Dann lässt man aus einer Burette 75 cc der Silber-Magnesiamischung zufliessen, füllt mit Wasser auf 175 cc auf, schüttelt um und filtrirt. Vom Filtrat versetzt man 140 cc ($^4/_5$ des ursprünglichen Volumens), wie bei der Titerstellung mit 20 cc der Cyankaliumlösung, 10 Tropfen der Jodkaliumlösung und titrirt mit der $^1/_{50}$ n-Silberlösung bis zur bleibenden Trübung. Rechnet man für jeden bis zu diesem Punkte verbrauchten Cubikcentimeter der Silberlösung 4,2 mg Harnsäure, so erhält man die Menge der im ursprünglichen Volumen enthaltenen Harnsäure.

Der Cubikcentimeter der $^1/_{50}$ n-Silberlösung zeigt 3,36 mg Harnsäure an; da man nur $^4/_5$ der ursprünglichen Lösung titrirt hat, so hat man diesen Werth mit $^5/_4$ zu multipliciren. Die verwendeten 50 cc Silberlösung reichen aus zum Fällen von 168 mg Harnsäure.

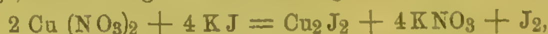
4. Andere Bestimmungsweisen.

a. Nach Kreidl[1]). Löst man Harnsäure in einem mässigen Ueberschuss von Normalalkali, setzt soviel $^1/_{30}$ n-Jodlösung zu, dass die Flüssigkeit schwach gelb gefärbt ist, und übersäuert nach dreiviertel Stunden schwach mit Salzsäure, so ergiebt die Titration des überschüssigen Jods mit Thiosulphat, dass auf 1 Mol. Harnsäure 2,3 At. Jod verbraucht worden sind. Titrirt man das Jod sogleich zurück, so wird auf das Mol. Harnsäure auffälliger Weise mehr Jod, nämlich 3,5 At. verbraucht.

---

1) J. Kreidl, Monatshefte f. Chemie **14**. 109. 1893.

b. Nach Riegler. Oxydirt man Harnsäure mit Fehling'scher Lösung, so werden nach Riegler's directer Bestimmung auf 1 g Harnsäure statt der erwarteten 0,7536 g im Mittel 0,8 g (0,7812—0,8333) Kupfer als Kupferoxydul abgeschieden. Zur schnellen Bestimmung des abgeschiedenen Kupferoxyduls empfiehlt Riegler, den Niederschlag mit Salpetersäure zu oxydiren, die Lösung zu neutralisiren und das Kupfer nach de Haen[1]) zu titriren. Der Lösung wird viel Jodkalium hinzugefügt, wobei folgende Umsetzung stattfindet



$$2\,Cu\,(NO_3)_2 + 4\,KJ = Cu_2J_2 + 4\,KNO_3 + J_2,$$

und das freigewordene Jod mit Thiosulphat titrirt.

c. Nach Mizerski. Bei der Oxydation von Harnsäure mit ammoniakalischer Silberlösung in der Wärme wird auf 0,380 g Harnsäure 1 g metallisches Silber abgeschieden (wonach auf 1 Mol. Harnsäure 4,09 At. Silber oder 2,045 At. Sauerstoff kommen). Dann soll das abgeschiedene Silber gewaschen, in Salpetersäure gelöst und nach Volhard titrirt werden. Nencki[2]) bemerkt dazu, dass das Verfahren keine genauen Resultate liefert, hauptsächlich wegen der Schwierigkeit, das metallische Silber vollständig zu sammeln.

d. Nach Geelmuyden[3]). Der Niederschlag, welcher in einer neutralen Harnsäurelösung durch Chlorbaryum entsteht, enthält fast genau so viel Stickstoff, wie die zu dem Versuch verwendete Menge Harnsäure. Gegenwart von Salmiak oder einfach saurem Natriumphosphat beeinträchtigt die Fällung der Harnsäure nicht oder nur wenig, geringe Mengen Säure oder Alkalihydrat (auch Ammoniak) üben dagegen einen sehr störenden Einfluss aus. Die zur Bestimmung verwendete Harnsäure ist in der Kälte in sehr verdünnter Natronlauge zu lösen, die Lösung so zu verdünnen, dass sie nicht mehr als 1 g Säure im Liter enthält und genau zu neutralisiren. Concentrirtere Lösungen trüben sich beim Neutralisiren.

II. Bestimmung der im Harn enthaltenen Harnsäure.

Die unter I angeführten Methoden zur Bestimmung der reinen Harnsäure lassen sich nicht unmittelbar auf den Harn anwenden, weil andere Harnbestandtheile die Bestimmung in hohem Grade störend beeinflussen. Für die quantitative Bestimmung ist die Harnsäure aus dem Harn darzustellen.

Die beiden im Folgenden zuerst beschriebenen Methoden, die von Ludwig und die von Hopkins, liefern gleich brauchbare Resultate. Von dem Ludwig'schen Verfahren ist die Fehlergrösse gut bekannt und sie dient daher zur Prüfung der Genauigkeit anderer (Standard-Methode).

1. Nach Ludwig.

A. Princip. Aus einer verdünnten Uratlösung wird die Harnsäure bei Gegenwart von Neutralsalz oder einer ammoniakalischen Magnesialösung durch eine ammoniakalische Silberlösung als Verbindung mit Silber und einem zweiten Metall bis auf Spuren gefällt (§ 33. B. 3. c. β. S. 318). Beim Behandeln des Niederschlags mit Alkali-

1) E. Riegler, Ztschr. f. analyt. Ch. 35. 31 u. 92. 1896. — E. de Haen, Ann. d. Chem. u. Pharm. 93. 237. 1854; Fresenius, quantit. Anal. 6. Aufl. 1. 335.

2) A. Mizerski, Nowiny lekarskie 1893. 121; Jahresb. f. Thierch. 1893. 251. — Nencki, Jahresber. a. a. O.

3) H. Chr. Geelmuyden, Ztschr. f. analyt. Ch. 31. 166. 1892.

Sulphhydratlösung geht die Harnsäure als Alkalisalz wieder in Lösung, und nach dem Eindampfen der angesäuerten Lösung krystallisirt die Harnsäure aus. Sie wird auf einem Filter gesammelt und gewogen (vgl. I. 3.). Weil sich der gelatinöse Harnsäureniederschlag nur schwer auswaschen lässt, wird im Harn durch Zusatz von ammoniakalischer Magnesialösung ein Niederschlag von Tripelphosphat erzeugt, der sich dem Harnsäureniederschlag beimengt und ihn so lockrer macht.

Die Grundlage des Verfahrens bildet die Beobachtung von Salkowski, dass aus Harn, aus welchem die Harnsäure durch Salzsäure, soweit es eben auf diese Weise geht, ausgefällt war, ammoniakalische Silberlösung den in Lösung gebliebenen Rest Harnsäure niederschlägt. Maly hat dann nachgewiesen, dass der durch das Reagens aus Harn direkt erhaltene Niederschlag neben Silber noch Alkali und Erdalkali enthält. Auf Grund seiner Beobachtung empfahl Salkowski die Harnsäure in zwei Theilen zu bestimmen. nämlich durch Fällen nach Heintz mit Salzsäure und den in Lösung gebliebenen Rest für sich durch ammoniakalische Silberlösung. Ludwig vereinfachte das Verfahren dahin, dass die gesammte Harnsäure blos durch ammoniakalische Silberlösung abgeschieden wurde. Ein ähnliches aber umständlicheres Verfahren hat Salkowski später selbst mitgetheilt. Ich gebe die Methode nach der späteren ausführlichen Beschreibung von Ludwig[1]) mit einigen von mir zweckmässig gefundenen Zusätzen.

B. Erfordernisse.

1. Ammoniakalische Silberlösung. Es werden 26 g salpetersaures Silber in Wasser gelöst, die Lösung mit soviel Ammoniak versetzt, dass der anfangs entstehende braune Niederschlag von Silberoxyd wieder in Lösung geht und die Lösung mit Wasser zum Liter aufgefüllt. — Statt Silbernitrat kann man auch die entsprechende Menge Chlorsilber in Ammoniak lösen.

2. Magnesiamischung. Man löst 100 g krystallisirtes Chlormagnesium in der genügenden Menge Wasser, setzt eine kalt gesättigte Chlorammonlösung in reichlicher Menge und darauf soviel starke Ammoniakflüssigkeit zu, dass die Mischung stark darnach riecht. Die Mischung soll klar sein; enthält sie einen flockigen Niederschlag (von Magnesiumhydrat), so wird dieser durch nachträglichen Zusatz von Chlorammonlösung oder durch Lösen von Salmiak in der Mischung auch in Lösung gebracht. Zuletzt wird auf 1 l aufgefüllt.

3. Lösung von Einfach-Schwefelkalium oder Schwefelnatrium. Es werden 15 g Kaliumhydrat oder 10 g Natriumhydrat zum Liter gelöst, die eine Hälfte der Lösung vollständig mit Schwefelwasserstoff gesättigt und mit der anderen Hälfte wieder vermischt. Das Alkalihydrat muss frei von Salpetersäure und salpetriger Säure sein; sie gelangen, an das Alkali gebunden, zuletzt in die Harnsäurelösung, und beim Ansäuern derselben mit Salzsäure werden diese Säuren sowie Chlor frei, und Harnsäure zerstört (§ 33. B 5 g. S. 324). Am Besten bereitet man das Sulphhydrat daher aus Natrium hydricum e natrio. Die Lösung zersetzt sich in Berührung mit Luft allmählich und enthält zuletzt kein Sulphhydrat mehr.

Die angegebene Concentration der drei Reagentien ist so gewählt, dass je 10 cc derselben für 100 cc Harn vollständig ausreichen, um einerseits alle Phosphorsäure und alle Harnsäure zu fällen und andererseits aus dem Niederschlage alle Harnsäure in Lösung zu bringen, selbst wenn der Harn überaus reich an Harnsäure ist.

---

[1]) Salkowski, Virchow's Archiv **52**. 58. 1871; Pflüger's Archiv **5**. 210. 1872. — R. Maly, Pflüger's Archiv **6**. 203. — E. Ludwig, Anzeiger d. k. Akad. d. Wissensch., mathem.-naturw. Cl. **18**. 92, Sitzung vom 7. April 1881; Chem. Centralbl. 1881. 390. — Salkowski, Die Lehre vom Harn. Berlin 1882. 96. — E. Ludwig, Wiener med. Jahrbb. 1884. 597; Ztschr. f. analyt. Ch. **24**. 637. 1885.

Denigès[1]) vereinigt die Silberlösung mit der Magnesiamischung. Es werden 150 g Salmiak und 100 g Chlormagnesium zusammen in 20 proc. Ammoniak gelöst, die Lösung mit Ammoniak auf 1 Ltr. aufgefüllt und filtrirt. Ein Volumen dieser mischt man mit dem gleichen Volumen einer $^{1}/_{10}$ n-Silberlösung (mit 17 g Silbernitrat im Liter). Von dieser Mischung genügen 25 cc, um die Harnsäure aus 100 cc Harn abzuscheiden.

C. Ausführung. Es werden 100 oder 200 cc Harn in ein Becherglas gemessen. In einem anderen Becherglas werden auf 100 cc Harn 10 cc der Silberlösung (1) mit 10 cc der Magnesiamischung (2) gemischt und der entstandene Niederschlag von Chlorsilber wieder in Ammoniak gelöst; ein sich dabei etwa bildender flockiger Niederschlag von Magnesiumhydrat bleibt unberücksichtigt. Diese Mischung giesst man unter Umrühren in den Harn, lässt den entstandenen Niederschlag sich einigermaassen absetzen, filtrirt ihn dann auf einem Saugfilter (von 10 cm Durchmesser) ab, und wäscht ihn noch 2—3 mal mit Wasser, dem einige Tropfen Ammoniak zugesetzt sind, nach. Die Waschflüssigkeit benutzt man zugleich zum Ausspülen des Becherglases, aus dem man aber nicht jeden Rest des Niederschlags auf das Filter zu bringen nöthig hat. Man saugt alle Flüssigkeit vom Filter ab. Sobald der Niederschlag rissig geworden ist, löst man ihn mit einem Glasstab vom Filter ab, und bringt ihn in das Becherglas zurück. Das Filter muss dabei ganz bleiben. Das Ablösen des halb trocknen Niederschlags vom Filter gelingt leicht in der Weise, dass man den Glasstab auf dem Filter entlang rollt. Die noch im Filter befindlichen Reste des Niederschlags werden möglichst vollständig gleichfalls in das Becherglas gespritzt.

Es werden dann 10 cc der Schwefelalkalilösung (3) mit ungefähr dem gleichen Volumen Wasser verdünnt und zum Kochen erhitzt. Mit dieser Flüssigkeit bespült man das Filter und lässt sie in das unter den Trichter gestellte Becherglas mit dem Niederschlag ablaufen. Man zertheilt den Niederschlag mit einem Glasstab möglichst fein, erhitzt über freier Flamme bis gerade zum Sieden oder stellt das Becherglas eine Zeit lang in kochendes Wasser. Ein zu langes Erhitzen bedingt einen Verlust an Harnsäure (§ 33. B. 5. c. S. 322). Nachdem man sich überzeugt hat, dass der ganze Niederschlag durchaus schwarz geworden ist und keine unveränderten grauen oder gelben Theile mehr enthält, filtrirt man durch das bereits benutzte Filter in eine Schale und wäscht den Niederschlag gut (bis zum Verschwinden der alkalischen Reaction) mit heissem Wasser aus. Das Filtrat wird alsdann mit Salzsäure angesäuert, wozu 5 cc einer auf das 4 fache verdünnten Säure von 1.12 Dichte genügen und dampft auf 10—15 cc ein. Nach dem Erkalten krystallisirt die Harnsäure vollends aus. Ludwig hält ein ein-

[1]) G. Denigès, Bull. de la Soc. chim. [3] **11**. 226. 1894.

stündiges Stehen der erkalteten Flüssigkeit dazu für genügend; ein längeres Zuwarten ist auf keinen Fall unvortheilhaft.

Um den Verlust zu vermeiden, welcher bei der Einwirkung der alkalischen Sulphhydratlösung in der Wärme eintreten kann, schüttelt Hopkins[2]) den Niederschlag in der Kälte tüchtig mit dem Sulphhydrat, erhitzt gerade bis zum Sieden und filtrirt.

Man darf nicht zur Trockne eindampfen, weil sonst die Harnsäure feinpulverig ausfällt und sich dann schwer abfiltriren lässt; ausserdem könnte sich wieder harnsaures Salz bilden und dieses der Bestimmung entgehen.

Die Menge der ausgeschiedenen Harnsäure lässt sich in verschiedener Weise bestimmen. Um sie zu wägen, bringt man sie nach Ludwig auf ein bei 110^0 getrocknetes Glaswollfilter (Fig. 44, S. 697), indem man das Filtrat zum Nachspülen der Schale so oft verwendet, bis sich alle Krystalle auf dem Filter befinden, saugt die Mutterlauge unter schwachem Druck ab und wäscht das Filter immer nur mit kleinen Mengen Wasser chlorfrei. Neben der Harnsäure befindet sich auf dem Filter noch Schwefel, welcher sich aus dem Schwefelalkali bei Zusatz der Säure abgeschieden hat und der vor dem Wägen entfernt werden muss. Zu diesem Zwecke trocknet man das Filter, spült es nach dem Erkalten (3 mal) mit Schwefelkohlenstoff durch und verdrängt den Schwefelkohlenstoff zuletzt sofort durch Aether. Das Filter wird dann wieder bei 110^0 getrocknet und nach dem Erkalten im Exsiccator gewogen. In der Regel genügt ein einstündiges Verweilen des Filters im Trockenkasten zur Herstellung der Gewichtsconstanz. Statt der Glaswolle lässt sich zum Füllen des Trichters auch mit Salzsäure ausgekochte und wieder säurefrei gewaschene Asbestwolle verwenden.

Nach diesem Verfahren erhielt Ludwig bei Versuchen mit reiner Harnsäure im Mittel 98 $^0/_0$ derselben wieder.

Enthält der Harn ein Harnsäuresediment, so löst man dieses vor dem Abmessen des Harns durch Erwärmen im Harn auf. Oder man löst es durch Erwärmen in möglichst wenig Natronlauge und mischt die Lösung mit dem Harn; ein dabei entstehender Phosphatniederschlag hat nicht viel auf sich; im Nothfall kann man, wenn er so stark ist, dass der Tripelphosphatniederschlag später zu schwach wäre, der Mischung noch Natronphosphat zusetzen. Sehr räthlich ist auch, um die Bildung eines Uratsediments zu verhindern, den Harn in einem etwas kohlensaures Natron enthaltenden Gefäss zu sammeln.

Pepton und Propepton beeinträchtigen nach Stadthagen die Fällung der Harnsäure nicht. Dagegen muss das Eiweiss vorher entfernt werden. Ludwig verfährt dazu nach § 43. I D. 3. S. 442, filtrirt durch ein Leinwand- oder Papierfilter und wäscht das Coagulum gut aus. Es wird dabei eine unbedeutende Menge Harnsäure weniger gefunden als in eiweissfreiem Harn.

Ist die Harnsäure stark gefärbt oder scheidet sich neben ihr noch Schwefelsilber ab, wie manchmal geschieht, so löst man sie in der Wärme in reiner (nitrat-

---

[1]) F. G Hopkins, Proceed. of the roy. Soc. 52. 97. 1892.

und nitritfreier) Natron- oder Kalilauge, filtrirt, wäscht aus, säuert das Filtrat mit Salzsäure an und verdampft zur Krystallisation. Dabei erleidet man aber nicht unerhebliche Verluste an Harnsäure. Um diese zu vermeiden und das lästige Wegwaschen des Schwefels zu umgehen, zersetzt Groves den Silberniederschlag statt mit Schwefelalkali mit einer äquivalenten Lösung von Jodkalium. Die Harnsäure färbt sich dabei aber leicht gelb und nach Hopkins[1]) wird durch frei werdendes Jod ein Theil der Harnsäure zerstört.

Deroide[2]) will die Harnsäure vom Schwefel in der Weise trennen, dass er sogleich nach Zusatz von Salzsäure zu dem alkalischen Filtrat durch ein kleines glattes Filter filtrirt und mit heissem Wasser nachwäscht. Der Schwefel scheidet sich aber erst vollständig beim Erwärmen der angesäuerten Flüssigkeit aus und schon vorher kann auf dem Filter Harnsäure auskrystallisiren.

Das Sammeln der Harnsäure auf Filtern von Glas- oder Asbestwolle hat etwas Missliches, weil sie sich schwer dicht herstellen lassen oder, wenn sie zu dicht ausgefallen sind, das Filtriren erschweren. Papierfilter, deren sich Groves sowie Geelmuyden bedienen, behalten bei wiederholtem Trocknen und namentlich nach der Behandlung mit Säure kein constantes Gewicht. Hopkins hat vorgeschlagen, die Harnsäure auf einem gehärteten Filter auszuwaschen, sie dann vom Filter auf eine gewogene Schale zu spritzen, was bei der Glätte des Filters leicht möglich ist, sie bei 110° zu trocknen und zu wägen.

Einige (Ebstein, Bödtker, Geelmuyden) haben mit der Harnsäure eine Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl (§ 74. S. 801) ausgeführt. Durch Multiplication des gefundenen Stickstoffs mit 3 erfährt man die Menge der Harnsäure.

Die Säure wird auf einem kleinen Papierfilter ausgewaschen und dann sammt dem Filter oxydirt, wozu man 10 cc Schwefelsäure, 5 g Kaliumsulphat und 0,5—1 g Kupfersulphat braucht. — Geelmuyden[3]) fand durch die Stickstoffbestimmung im Mittel von 14 Bestimmungen 9,36% weniger als durch Wägen auf einem Papierfilter, hält aber die nach Kjeldahl erhaltenen Resultate für die richtigeren.

Noch einfacher lässt sich die Harnsäure nach einer der unter I. 1., 2. oder 3. c. angeführten Methoden bestimmen. Für das Titriren mit Piperidin (I. 1.) muss die Harnsäure völlig säurefrei gewaschen werden, bei den beiden anderen Methoden ist dieses nicht unbedingt nöthig. Die Harnsäure wird vom Filter abgespritzt und für den Versuch verwendet.

2. Nach Hopkins[4]).

A. Princip. Das Verfahren ist aus dem von Fokker angegebenen hervorgegangen, bei welchem der Harn mit einer beschränkten Menge Salmiaklösung versetzt wird, um die Harnsäure als Ammonurat

---

1) E. W. Groves, Journ. of Physiol. 12. 484. 1891. — Hopkins, a. a. O.

2) E Deroide, Contribution à l'étude des procédés de dosage de l'acide urique. Lille 1891. 28.

3) H. Chr. Geelmuyden, Ztschr. f. analyt. Ch. 31. 160. 1892.

4) F. Gowland Hopkins, Guy's Hospital Reports 48. 299. 1891; Centralblatt f. d. med. Wissensch. 1892. 931. — Proceedings of the London roy. Soc. 52. 93. 1892; Chem. Centralbl. 1892. 2. 269. — The Journal of Pathology and Bacteriology 1. 451. 1893.

abzuscheiden. Die Fällung ist aber dabei eine unvollständige. Völlig unlöslich ist dagegen, wie Hopkins gezeigt hat, das Ammonurat in einer ganz oder nahezu ganz gesättigten Chlorammonlösung. Aus dem Ammonsalz kann die Harnsäure durch Salzsäure abgeschieden und ihre Menge durch Wägen oder Titriren bestimmt werden; auch lässt sich das Ammonurat direct titriren.

Andere Ammonsalze fällen die Harnsäure auch, aber, nach Hopkins, nicht so gut, als Salmiak; bei Verwendung von Ammonsulphat ist die Fällung nach Edmunds[1]) erst in einigen Tagen vollendet.

Reine Harnsäure fand Hopkins bei seinen Bestimmungen durch Wägen bis auf 1 % wieder; von 0,1 g fehlte 1 mg. Aus Harn fällt beim Sättigen desselben mit Salmiak die Harnsäure so vollständig, dass man im Filtrat auf keine Weise Harnsäure auffinden kann, und die Abweichung der Bestimmung der Harnsäure im Harn (durch Wägen) braucht von der nach Ludwig 1 % nicht zu überschreiten.

Ausser der Harnsäure werden nach Hopkins noch Farbstoffe und Xanthin gefällt, Hypoxanthin und Kreatin dagegen nicht. Bei der Zerlegung des Ammonurats mit Salzsäure wird das Xanthin ganz und der Farbstoff grösstentheils entfernt. Sie beeinträchtigen also die Bestimmung durch Wägen und Titriren nicht, bei der Titrirung des Ammonurats kann aber nach Hopkins das Xanthin einen Fehler veranlassen. Doch kann der durch die Gegenwart des Xanthins im Salmiakniederschlag bedingte Fehler, wenn er überhaupt besteht, nur sehr gering sein, da Ritter[2]) im Mittel auf 7 Bestimmungen durch Titriren des Ammonurats aus Harn mit Permanganat nur 0,7 % mehr Harnsäure fand, als durch Wägen und bei der Bestimmung reiner Harnsäure diese Abweichung 1,5 % betrug. Der Unterschied lässt sich zwanglos aus einem Verlust an Harnsäure beim Auswaschen derselben erklären. Die ausgewaschene Harnsäure enthält nach Hopkins nur eine Spur unverbrennliche Substanz.

Eiweiss scheint keinen oder nur einen geringen Einfluss auf die Genauigkeit der Bestimmung zu haben; es wird durch den Salmiak nur unvollständig gefällt und das etwa niedergeschlagene Eiweiss wird bei der Behandlung des Niederschlags mit Salzsäure und beim Auswaschen entfernt. Gallenfarbstoff wird zwar mit gefällt, aber der Fehler ist nach Hopkins schliesslich doch nur gering.

B. Erfordernisse.

1. Reines Chlorammon. Der Salmiak, welcher bei der Wägungsbestimmung der Harnsäure verwendet werden soll, darf nichts Unlösliches enthalten. Die Lösung des Salzes muss filtrirt und durch Eindampfen zum Krystallisiren gebracht werden. Soll das Ammonurat (mit Permanganat) titrirt werden, so muss das Ammonsalz frei sein von Ferrosalz, welches es in der Regel enthält.

2. Reines Ammonsulphat. Dasselbe dient zum Wegwaschen des Chlorammons, wenn das Ammonurat als solches titrirt werden soll. Es darf kein Ferrosalz und Chlor nur in Spuren enthalten. Vom Chlor befreit man es durch Umkrystallisiren. Um das Ferrosalz zu entfernen, lässt man die Lösung des Ammonsulphats nach Zusatz einer reichlichen Menge von Schwefelammon in einer verschlossenen Flasche stehen, bis sich das Schwefeleisen am Boden abgesetzt hat, filtrirt dann und dampft zur Krystallisation ein. Filtrirt man, wenn das Schwefeleisen noch suspendirt ist, so geht es mit durch das Filter. Das Salz muss zur Entfernung ausgeschiedenen Schwefels noch umkrystallisirt werden und bei dieser Gelegenheit entfernt man zugleich das Chlor. Die Lösung braucht nur

---

1) A. Edmunds, Journ. of Physiol. 17. 452. 1895.

2) G. v. Ritter, Ztschr. f. physiol. Ch. 21. 291. 1895.

zu 0,9 gesättigt zu sein; um diese Lösung zu erhalten, mischt man 9 Vol. der ganz gesättigten Lösung mit 1 Vol. Wasser.

Das Chlorammon befreit man vom Ferrosalz ebenso wie das Ammonsulphat, oder man versetzt die Lösung mit Chlorwasser, macht mit Ammoniak alkalisch und filtrirt, wenn sich das gebildete Eisenoxyd abgeschieden hat. Dieses Verfahren ist für die Reinigung des Ammonsulphats nicht verwendbar, da dieses chlorfrei sein soll.

C. Ausführung.

In 100 cc Harn werden 30 g Salmiak in der Kälte gelöst. Die Anfangs gleichmässig trübe Flüssigkeit klärt sich beim Stehen in dem Maasse, als sich das Ammonurat absetzt. Der Niederschlag kann schon 2 Stunden nach Herstellung der Lösung filtrirt werden. Man bringt ihn auf ein kleines Filter, wäscht ihn 3—4 mal mit einer gesättigten Chlorammonlösung nach, die man zugleich zum Nachspülen des Becherglases benutzt. Dann spritzt man den Niederschlag vom Filter und den etwa noch im Becherglas befindlichen Rest mit Wasser in eine kleine Schale, erhitzt bis zum Sieden und setzt einige cc concentrirte Salzsäure zu. Das Urat geht dabei vollständig in Lösung und beim Erkalten krystallisirt die Harnsäure aus. Macht die Flüssigkeit mehr als 20—30 cc aus, so dampft man sie vor dem Zusatz der Salzsäure auf ungefähr dieses Volumen ein. Nach 2stündigem Stehen der mit Salzsäure vermischten Flüssigkeit kann die Harnsäure abfiltrirt werden.

Zur Sättigung von 100 cc Wasser sind bei 15° 35,3, bis 20° 37,3 g Salmiak erforderlich; die 30 g Salmiak, welche man in 100 cc Harn lösen soll, genügen aber zur vollständigen Abscheidung der Harnsäure. Man kommt schneller und sicherer zum Ziele, wenn man die erforderliche Menge Salmiak abwägt, als wenn man den Harn mit ungewogenen Mengen Salmiak zu sättigen versucht. Auch ist es vortheilhaft, den Salmiak fein zu pulvern. Nach 2stündigem Stehen der Lösung ist alles Ammonurat ausgefallen; das Filtrat bleibt wochenlang klar. Ist man verhindert, den Niederschlag bald abzufiltriren, so kann man ihn mit etwas Phenol versetzen, um die das Filtriren erschwerende Verpilzung zu verhindern. Das Filtrat soll völlig klar und glänzend sein; geht es trübe durch das Filter, so kann man versuchen, es durch wiederholtes Aufgiessen auf dasselbe Filter zu klären, doch gelingt das nicht immer.

Ein Zusatz von Ammoniak beschleunigt die Abscheidung des Ammonurats; doch darf man das Ammoniak erst nach dem Auflösen des Salmiaks hinzufügen, weil sonst Erdalkaliphosphat gallertig ausfällt, welches das Filtriren verhindert. Aus dem mit Salmiak gesättigten Harn scheidet das Ammoniak nur spärliche, für das Filtriren belanglose Tripelphosphatkrystalle ab.

Enthält die abgemessene Harnmenge ein Uratsediment, so ändert dieser Umstand Nichts an dem Verfahren. Ein geringes Phosphatsediment lässt man unberücksichtigt, ein sehr grosses soll nach Hopkins abfiltrirt und mit heissem Wasser gewaschen werden.

Ist das Ammonurat stark gefärbt, so muss es in Gegenwart von Alkohol zerlegt werden. Man spült das Urat mit halbverdünntem rectificirten Weingeist vom Filter in ein Becherglas, setzt Salzsäure zu, erhitzt zum Kochen und lässt das mit einem Uhrglas bedeckte Becherglas noch einige Zeit auf einem Wasserbad stehen; die Harnsäure muss darauf gut ausgewaschen werden.

Die ausgeschiedene Harnsäure sammelt man, wie bei II. 1. entweder auf einem Glaswoll- oder Asbestfilter, wäscht sie aus, trocknet und wägt sie mit dem Filter; oder man sammelt sie auf einem gehärteten Filter, spült sie nach dem Waschen in eine Schale, trocknet und wägt. Für je 15 cc Mutterlauge zählt man der gewogenen Harnsäure 1 mg zu; für das Waschwasser ist dagegen nach Hopkins eine solche Correctur nicht nöthig.

Die Harnsäure lässt sich auch nach einer der unter I. 1., 2. oder 3. c. beschriebenen Arten titriren; für die acidimetrische Bestimmung (1.) muss die Harnsäure vorher von der Salzsäure frei gewaschen werden. Die Titrirung mit Permanganat (I. 2.), sowie die mittelst Cyankalium (I. 3. c.) lässt sich auch direct auf das Ammonurat anwenden, so dass man die Reindarstellung der Harnsäure ersparen kann. Hopkins hat die Titrirung mit Permanganat für klinische Zwecke vorgeschlagen, v. Ritter[1]) hat aber nachgewiesen, dass dieses Verfahren ebenso genaue Resultate liefert, wie die Bestimmung der Harnsäure als solche und dass es also allgemein anwendbar ist. Das Ammonurat muss dazu frei von Chlorid gewaschen werden, weil Salzsäure durch das Permanganat gleichfalls oxydirt wird.

Man wäscht mit der zu 0,9 gesättigten Ammonsulphatlösung (B. 2.). Das Auswaschen auf einem Papierfilter nimmt nach v. Ritter 2 Tage in Anspruch und man sollte daher Glaswollfilter anwenden, bei denen man aber wieder sehr leicht Gefahr läuft, Harnsäure zu verlieren. Die schädliche Wirkung der Salzsäure auf das Permanganat durch Zusatz von Manganosalz zu beseitigen, hat sich nach v. Ritter in diesem Fall nicht bewährt.

Für das Titriren nach dem Cyankaliumverfahren braucht das Ammonurat nicht chlorfrei gewaschen zu werden; dieses Verfahren führt daher am Schnellsten zum Ziele.

3. Als Barytsalz.

Byasson fällt die Harnsäure aus dem Harn durch ein Gemisch von Chlorbaryum und Baryumhydrat und titrirt die Harnsäure in schwefelsaurer Lösung mit Permanganat. Baftalowskij schlägt sie mit Baryumhydrat nieder und bestimmt im Niederschlag den Stickstoff nach Kjeldahl; nach seinen Angaben stimmt das Mittel der Bestimmungen nach diesem Verfahren sehr gut zu dem Mittel der Bestimmungen nach Ludwig, in den zusammengehörigen Analysen weichen aber die Resultate beträchtlich von einander ab. Mit reiner Harnsäure erhält man nach Geelmuyden[2]) durch Fällen mit Chlorbaryum zwar gute Resultate (I. 4. d. S. 820), der Niederschlag aber, welcher mit Chlorbaryum aus neutralisirtem unverdünnten Harn ausfällt, enthält mehr Stickstoff, als die nach Ludwig aus dem gleichen Volumen Harn gewonnene Harnsäure.

---

[1]) G. v. Ritter, Ztschr. f. physiol. Ch. **21**. 288.

[2]) Byasson, Journ. de pharm. et de chimie **6**. 20. 1882. — E. D. Baftalowskij, Wratsch 1888; Jahresber. f. Thierchemie 1888. 128. — H. Chr. Geelmuyden, Ztschr. f. analyt. Ch. **31**. 166. 1892.

4. Durch Titriren mit Silberlösung.

Bartley[1]) hat folgendes Verfahren vorgeschlagen, über dessen Genauigkeit noch keine weiteren Erfahrungen vorliegen. Es gründet sich, wie das Verfahren von Ludwig und von Haycraft, auf die Fällung der Harnsäure durch ammoniakalische Silberlösung; um aber die gleichzeitige Abscheidung der Xanthinbasen zu vermeiden, wird die Fällung in der Wärme vorgenommen. Es dient dazu eine $^1/_{5}$) n-Silberlösung, aus deren Verbrauch die Menge der Harnsäure berechnet wird.

Zu 50 oder 100 cc klarem Harn werden 5 cc Magnesiamischung und etwa 10 cc 10 proc. Ammoniak (von 0,960 Dichte), jedenfalls aber in merklichem Ueberschuss zugesetzt. Die Mischung wird auf dem Wasserbad erwärmt und so lange mit Silberlösung versetzt, bis ein herausgenommener Tropfen auf einer weissen Unterlage mit Schwefelalkali einen schwachen Niederschlag giebt. Damit in dem Probetropfen nicht Silberniederschlag enthalten sei, wird die Probe mit einer Pipette entnommen, an deren Ende behufs der Filtration ein Bäuschchen Watte befestigt ist. Wie besondere Versuche ergaben, tritt die Endreaction erst dann ein, wenn 1 % der Harnmenge an Silberlösung mehr zugesetzt ist, als die Harnsäure zur Fällung erfordert. Der cc der $^1/_{50}$ n-Silberlösung zeigt 3,36 mg Harnsäure an.

§ 78. Bestimmung der Xanthinbasen.

Behufs quantitativer Bestimmung der Xanthinbasen schlägt man sie aus dem Harn nieder und bedient sich dazu ammoniakalischer Silberlösung, als des am Besten untersuchten Fällungsmittels; mit den Xanthinbasen fällt zugleich auch die Harnsäure aus, und man kann nun entweder so verfahren, dass man beiderlei Körper trennt und die isolirten Xanthinbasen der Bestimmung entgegenführt (directes Verfahren) oder so, dass man die Menge der Harnsäure für sich ermittelt und diese von der Summe des Gemisches abzieht (indirectes Verfahren). Dabei ist zu beachten, dass alle Fehler bei der Bestimmung der Harnsäure den Xanthinbasen zur Last fallen. Arnstein schätzt den Fehler auf mindestens 10 % der Xanthinbasen.

Von anderen, die Genauigkeit der Bestimmung störenden Harnbestandtheilen können durch die ammoniakalische Silberlösung gefällt werden das Rhodan und das Eiweiss. Das Rhodansilber kann, wie Arnstein[2]) gezeigt hat, durch einen reichlichen Gehalt der Flüssigkeit an Ammoniak in Lösung erhalten werden, und die im normalen Harn vorkommenden geringen Mengen Eiweiss beeinträchtigen, gleichfalls nach Arnstein, die Bestimmung nicht; enthält der Harn aber Eiweiss in solchen Mengen, dass es durch die klinischen Methoden (durch Kochen oder durch Essigsäure und Ferrocyankalium) nachgewiesen werden kann, so muss es entfernt werden, wozu Kochen des Harns bei

---

[1]) E. H. Bartley, Journ. of the Amer. chem. Soc. 19. 649; Chem. Centralblatt 1897. 2. 644.
[2]) R. Arnstein, Ztschr. f. physiol. Ch. 23. 417. 1897.

geeignetem Zusatz von Essigsäure (§. 43. I. D. 1. S. 441) das passendste Verfahren ist. Harnpepton bleibt bei der Silberfällung in Lösung.

Durch das Ammoniak wird auch Tripelphosphat gefällt. Da, wo diese Beimengung die Bestimmung erschwert oder unmöglich macht, fällt man daher den Harn vor dem Zusatz der ammoniakalischen Silberlösung mit Magnesiamischung aus. Diese vorbereitende Fällung hat nach Arnstein noch den Vortheil, dass durch dieselbe geringe Mengen Eiweiss (0,05 %, aber nicht mehr 0,15 %) aus dem Harn entfernt werden. Aus der ammoniakalischen Flüssigkeit fällt beim Stehen Ammonurat nicht in merklichen Mengen aus, und man braucht daher das Tripelphosphat nicht sofort abzufiltriren.

Sehr vollkommen gefällt werden die Xanthinbasen mit der Harnsäure ausser durch Phosphorwolframsäure auch durch eine saure Kupferoxydullösung (Kupfersulphat mit überschüssigem Natriumbisulphit). Bei dem auf die Verwendung von Kupferoxydul gegründeten Verfahren von Krüger u. Wulff werden aber, wie ich gezeigt habe, auch Rhodan, Eiweiss und Albumosen quantitativ niedergeschlagen und aus Hundeharn fällt nach Solomin[1]) dabei auch die Kynurensäure.

A. Directes Verfahren.

1. Durch Fällen als Silbersalz, nach Salkowski[2]).

A. Princip. Nach Abscheidung der Phosphorsäure durch Magnesiamischung werden die Harnsäure und die Xanthinbasen durch ammoniakalische Silberlösung gefällt, der Niederschlag mit Schwefelwasserstoff zerlegt, die Xanthinbasen von der Harnsäure durch verdünnte Schwefelsäure getrennt, die in schwefelsaurer Lösung befindlichen Xanthinbasen wieder mit ammoniakalischer Silberlösung abgeschieden und in diesem Niederschlag das Silber bestimmt. Aus der gefundenen Menge Silber wird die Menge der Xanthinbasen berechnet.

In der Beschreibung des Verfahrens habe ich einige mir zweckmässig erscheinende, an sich unwesentliche Aenderungen vorgenommen.

B. Erfordernisse.

1. Magnesiamischung nach Ludwig S. 821.

2. Eine 3 proc. Silberlösung, oder die ammoniakalische Silberlösung nach Ludwig a. a. O.

3. Auf das Dreissigfache ihres Gewichts verdünnte Schwefelsäure. Man erhält sie durch Zusatz von 10 cc englischer Schwefelsäure zu 550 cc Wasser.

4 Fünfzigstel - Normal - Rhodanammonlösung. Sie wird nach § 61. B. I. S. 706 auf 0,02 n Silberlösung (mit 3.4 g Silbernitrat im Liter) gestellt. Der Cubikcentimeter derselben zeigt 1,52 mg Xanthin an.

---

[1]) M. Krüger u. C. Wulff, Ztschr. f. physiol. Ch. **20**. 181. 1894. — Huppert, daselbst **22**. 556. 1897. — P. Solomin, daselbst **23**. 501. 1897.
[2]) Salkowski, Pflüger's Archiv **69**. 280. 1898.

Salkowski bediente sich zumeist einer Rhodanlösung, von welcher 7,65 cc 10 cc einer Silberlösung = 10 mg Chlornatrium entsprachen; diese Lösung war sonach 0,0224 n. Ferner legt er der Berechnung der Xanthinbasen ein Gemeng der bis jetzt im Harn aufgefundenen Alloxurbasen nach gleichen Theilen zu Grunde, eine unzutreffende Annahme, die sich überdem immer mit dem Stand unserer Kenntnisse ändern müsste. Unter dieser Annahme würde der Cubikcentimeter seiner Rhodanlösung 1,7825 mg Xanthinbasen anzeigen, der Cubikcentimeter der $^1/_{50}$ n 1,59 mg des Xanthinbasengemenges.

C. Ausführung. Eine grössere Menge (bei mittlerer Dichte 0,5 l) eiweissfreier Harn wird in einem Maasscylinder auf 100 cc mit 10 cc Magnesiamischung versetzt und mit starkem Ammoniak auf ein rundes Volumen aufgefüllt (0,5 l auf 0,6 l). Nach einigen Minuten filtrirt man durch ein trocknes Faltenfilter, misst vom Filtrat ein rundes Volumen (540 cc mit 450 cc Harn) ab und vermischt es auf 100 cc mit 6 cc der 3 proc. wässrigen oder 10 cc der ammoniakalischen Silberlösung. Der Niederschlag soll durchscheinend und gallertig sein; ist er weiss, so enthält er noch Chlorsilber und dieses ist dann durch Zusatz von Ammoniak noch in Lösung zu bringen. Bei Verwendung der wässrigen Silberlösung hat man überdem nachzusehen, ob die Mischung Silber enthält, wozu eine abgehobene klare Probe mit Salpetersäure zu übersättigen ist.

Nachdem der Niederschlag ungefähr eine Stunde gestanden hat, bringt man ihn auf ein glattes Filter und wäscht ihn silberfrei; ihn auch nahezu chlorfrei zu waschen, wie Salkowski vorschreibt, ist überflüssig. Man spritzt ihn dann vollständig vom Filter in einen Kolben, versetzt die Flüssigkeit, deren Volumen gleich dem des verwendeten Harns sein kann, mit einigen Tropfen Salzsäure und zerlegt ihn unter häufigem Schütteln vollständig mit Schwefelwasserstoff; der Zusatz der Salzsäure geschieht deshalb, weil sonst leicht Schwefelsilber mit in das Filtrat übergeht. Alsdann erhitzt man den Kolben auf dem Wasserbad, filtrirt, wäscht den Niederschlag aus und verdampft das Filtrat anfangs über freiem Feuer, später im Wasserbad zur Trockne.

Statt mit Schwefelwasserstoff kann man den Niederschlag, wie bei der Bestimmung der Harnsäure nach Ludwig S. 822 (in Wasserbadwärme) mit Schwefelnatrium zerlegen und Filtrat und Waschwasser nach dem schwachen Ansäuern mit Schwefelsäure zur Trockne verdampfen. Vergleichende Bestimmungen, welche Schrader[1]) nach beiden Methoden ausgeführt hat, sprechen für die Verwendbarkeit dieses Verfahrens.

Der trockene Rückstand wird darauf mit 25—30 cc der verdünnten Schwefelsäure bis zum beginnenden Sieden erhitzt, die Flüssigkeit 16—20 Stunden stehen gelassen, die Harnsäure, welche sich abgeschieden hat, mit Hilfe des Filtrats auf ein kleines Filter gebracht und dieses mit der verdünnten Schwefelsäure gewaschen, wozu ein 2—3 maliges

---

[1]) Schrader, bei Salkowski, a. a. O. 301.

Aufgiessen der Säure genügt. Filtrat und Waschflüssigkeit brauchen nicht mehr als 50 cc zu betragen. Man übersättigt mit Ammoniak, fällt abermals mit Silberlösung und wäscht den Niederschlag auf einem aschefreien Filter nun chlor-, silber- und schwefelsäurefrei. Das Filter wird getrocknet, im Porzellantiegel verbrannt, das gebildete Silber in chlorfreier Salpetersäure gelöst, wie § 77. I. 3. b. S. 817 angegeben, und seine Menge durch Titriren mit der 0,02 n Rhodanlösung ermittelt.

Die Bestimmung ist nicht völlig genau, weil eine kleine Menge der Harnsäure von der Schwefelsäure in Lösung erhalten wird (Salkowski), die Verbindung der Xanthinbasen mit Silberoxyd in Ammoniak nicht ganz unlöslich ist, und weil sich nicht alles Silber in der Salpetersäure vollständig löst; Parallelanalysen ergeben aber bei sorgfältiger Arbeit bis auf Bruchtheile von Milligrammen gleiche Resultate.

2. Durch Fällen mit Phosphorwolframsäure.

Will man die Xanthinbasen, wie Stadthagen sowie Baginsky[1]) gethan haben, mit Phosphorwolframsäure abscheiden, so hat man dazu das Verfahren von Hofmeister (§ 34. C. 3. S. 364) zu befolgen. Bei der Behandlung des Niederschlags mit Baryumhydrat bleibt zwar die Harnsäure ganz oder fast ganz ungelöst, man ist aber dadurch einer Trennung derselben von den Xanthinbasen, wie bei a, nicht überhoben. Sie kann nach dem Verfahren von Salkowski oder dem von Horbaczewski oder Wulff (S. 369) vorgenommen werden. Da die Verbindungen der Xanthinbasen mit Baryt schwer löslich sind, so muss die barythaltige Flüssigkeit verdünnt sein, um einem Verlust an Xanthinbasen vorzubeugen. Zuletzt sind sie durch Digestion mit ammoniakalischer Silberlösung in das Silbersalz überzuführen.

3. Durch Titriren mit Silbersalz.

Bartley wendet sein zur Bestimmung der Harnsäure vorgeschlagenes Verfahren (§ 77. II. 4. S. 828) auch auf die Bestimmung der Xanthinbasen an, indem er nach dem Erkalten des bereits zum Titriren der Harnsäure benutzten Harns noch von seiner ammoniakalischen Silberlösung wieder bis zum Eintritt der Endreaction zusetzt. Es ist keine Bürgschaft für die Richtigkeit des Resultats vorhanden.

B. Indirectes Verfahren.

1. Nach Haycraft[2]).

A. Princip. Der Harn wird, wie bei dem Verfahren von Ludwig (§ 77. D. 1. S. 820) mit Magnesiamischung und ammoniakalischer Silberlösung gefällt, der Niederschlag auf einem eigens hergerichteten Filter gewaschen, in Salpetersäure gelöst und das in Lösung gegangene Silber nach Volhard (§ 61. B. 1. S. 705) titrirt. Ausserdem wird in einem gleichen Volumen Harn die Harnsäure

---

1) Stadthagen, Virchow's Archiv **109**. 406. 1887. — Baginsky, Ztschr. f. physiol. Ch. **8**. 396. 1883/84.

2) J. B. Haycraft, Brit. med. Journ., Dec. 12. 1885. 1100; Ztschr. f. analyt. Ch. **25**. 165. 1885.

gesondert bestimmt. Auf die Harnsäure entfällt für ein Mol. derselben von dem gefundenen Silber 1 At. oder auf 1 g Harnsäure 0,643 g Silber. Das für die Harnsäure berechnete Silber wird von der Summe des Silbers abgezogen und aus dem Rest die Menge der Xanthinbasen berechnet, welche auf 1 Mol. 2 At. Silber enthalten haben; 1 g Silber entspricht darnach 0,704 g Xanthin.

Eiweisshaltiger Harn muss so vollständig vom Eiweiss befreit werden, wie bei der quantitativen Bestimmung durch Coagulation. (§ 81. I. 1. A.) Gegenwart von Zucker beeinträchtigt nach Herrmann die Bestimmung nicht. Eine vorläufige Fällung des Harns mit Magnesiamischung ist hier nicht am Platze, weil hier ein voluminöser Niederschlag erwünscht ist. Ein Uratsediment kann man abfiltriren, muss aber für die gesonderte Bestimmung der Harnsäure denselben filtrirten Harn benutzen.

Das Verfahren ist von Herrmann[1]) in einigen Punkten abgeändert worden. Ich beschreibe es nach dieser Modification.

B. Erfordernisse.

1. Ammoniakalische Silberlösung.
2. Magnesiamischung, beide nach Ludwig S. 821.
3. Fünfzigstelnormal-Silberlösung (mit 3,4 g Silbernitrat im Liter).
4. Chlor- und salpetrigsäurefreie Salpetersäure von ungefähr 1,2 Dichte (S. 706).
5. Fünfzigstelnormal-Rhodanlösung. Man löst ungefähr 2 g Rhodanammon zum Liter und stellt die Lösung auf die Fünfzigstelnormal-Silberlösung nach S. 706.
6. Das Filter. Zur Herrichtung des Filters wird ein rundes, siebförmig durchlochtes Platinblech von 2 cm Durchmesser in einen Trichter gelegt, darauf eine ganz dünne Schicht Glaswolle und auf diese mit mässig verdünnter Salzsäure ausgekochte und wieder säurefrei gewaschene Asbestwolle. Diese wird mit den Fingern so an Trichterwand und Platinblech angedrückt, dass sich ein muldenförmiger fester Filz bildet. Die Glaswolle verhindert das Verstopfen der Löcher des Filterblechs durch den Asbest beim Absaugen mit der Pumpe. Auf dem Filter bleibt Harnsäure zurück und es kann daher nur zu einer einzigen Bestimmung gebraucht werden.

C. Ausführung nach Haycraft-Herrmann.

Man versetzt 50 cc Harn mit je 5 cc der Ludwig'schen Silberlösung und Magnesiamischung, wie bei Ludwig (S. 821), lässt den Niederschlag sich einigermaassen absetzen und filtrirt zuerst die Flüssigkeit durch das Filter (6) mit der Saugpumpe ab, dann vertheilt man 4 g doppeltkohlensaures Natron in groben Stücken auf der Filterfläche und bringt den Niederschlag auf dasselbe. Der Zusatz von Bicarbonat hat wie die Erzeugung des Tripelphosphats den Zweck, den Niederschlag locker zu machen. Das Becherglas, in welchem der Niederschlag ent-

---

[1]) A. Herrmann, Ztschr. f. physiol. Ch. 12. 496. 1888.

halten war, sowie dieser selbst werden mit schwach ammoniakalischem Wasser vollständig chlor- und silberfrei gewaschen, anfangs mit der Saugpumpe, bis der Niederschlag rissig wird, später ohne dieselbe, weil sonst Niederschlag in das Filtrat übergeht. Es kann die Pumpe dann nur zum Absaugen der letzten Tropfen Flüssigkeit aus dem Filter benutzt werden. Auf Silber prüft man das Filtrat mit Salzsäure, setzt aber nur wenig mehr zu, als zum Ansäuern des Filtrats erforderlich ist, weil eine schwache Chlorsilbertrübung in überschüssiger Salzsäure leicht wieder verschwindet; auf Chlor wird mit einer klaren Lösung von Silbernitrat in schwacher Salpetersäure geprüft.

Der rein gewaschene Niederschlag wird dann auf dem Filter durch Uebergiessen mit der chlor- und salpetrigsäurefreien Salpetersäure (4) gelöst. Nachdem der Niederschlag in Lösung gegangen ist, wäscht man das Filter mittelst der Saugpumpe erst mit stark verdünnter gleichfalls reiner Salpetersäure und dann mit Wasser bis zum Verschwinden der sauren Reaction. Die Zeit vom Filtriren des Niederschlags bis zum Lösen desselben braucht $^1/_2$ Stunde nicht zu überschreiten. Die Lösung des Niederschlags titrirt man dann mit der Rhodanlösung (5) wie bei der Titerstellung auf dieselbe Endreaction. Zwei solcher Bestimmungen mit demselben Harn können nach Herrmann bei richtiger Ausführung des Verfahrens identische Resultate geben.

D. **Ausführung nach Denigès.**

Die Ausführung der Vorschrift von Haycraft erfordert grosse Geschicklichkeit und Genauigkeit, und ist wegen der Herstellung des Filters umständlich. Czapek[1]) hat daher zuerst ein Verfahren angegeben, das von der Harnsäure und den Xanthinbasen gebundene Silber durch Zurücktitriren des Silbers zu bestimmen, welches nach Zusatz einer bekannten Menge in Ammoniak gelösten Silbers zu Harn in Lösung bleibt. Zum Titriren des Silbers in ammoniakalischer Lösung diente Kalium- oder Natrium-Sulphhydrat. Dieses ändert aber beim Aufbewahren seinen Titer fortwährend und es muss bei jeder einzelnen Analyse sein Titer neu gestellt werden. Dadurch ist das Verfahren umständlich. An Stelle des Sulphhydrats hat Denigès Cyankalium gesetzt und dadurch das Verfahren praktischer gestaltet.

Das Princip der Methode und die Erfordernisse sind § 77. I. 3. c. S. 818 angegeben und das Verfahren für die Titrirung von reiner Harnsäure beschrieben. Um die Bedingungen, unter denen die Titrirung des Harns vor sich gehen soll, denen der Titerstellung der Cyankaliumlösung möglichst gleich zu machen, misst man zu 100 cc Harn 75 cc

1) Czapek, Ztschr. f. physiol. Ch. **12**. 502. 1888.

der a. a. O. vorgeschriebenen Silber-Magnesiamischung, schüttelt um, filtrirt und verwendet vom Filtrat $^4/_5$ des ursprünglichen Volumens, d. i. 140 cc, zur Titrirung. Es werden 20 cc der Cyankaliumlösung zugemessen und so lang von der $^1/_{50}$ n-Silberlösung zufliessen gelassen, bis bleibende Trübung eintritt. Die verbrauchte Menge Silber giebt an, wie viel Silber in dem Silberniederschlag des Harns enthalten ist. Da nur $^4/_5$ des ursprünglichen Volumens titrirt worden sind, so hat man die Anzahl der verbrauchten cc mit $^5/_4$ zu multipliciren, um zu erfahren, wie viel von der Silberlösung für 100 cc Harn nöthig gewesen wäre.

Daneben ist in 100 cc desselben Harns die Harnsäure für sich zu bestimmen. Für 0,1 g dieser Harnsäure zieht man 29,76 cc von der verbrauchten Silberlösung ab; von dem Rest der Silberlösung entspricht der cc 1,52 mg Xanthin.

Die Richtigkeit des Resultats hängt davon ab, mit welcher Genauigkeit die Summe von Harnsäure und Xanthinbasen und die Harnsäure für sich bestimmt werden können. Denigès hat 10 normale und pathologische Harne nach Haycraft und nach seinem Verfahren mit sehr guter Uebereinstimmung der Resultate analysirt. Eiweiss stört nicht, nur die jodidhaltigen Harne sind vorher vom Jod in der Weise zu befreien, dass 100 cc Harn in einem Maasscylinder mit 1 cc Salpetersäure und 20 cc $^1/_{10}$ n.-Silberlösung versetzt werden; diese Silbermenge bindet das Jod von 0,332 g Jodkalium, genügt also für alle Fälle. Man fügt dann noch 5 cc gesättigte Kochsalzlösung zu, um etwa überschüssiges Silber zu entfernen, füllt auf 200 cc auf und filtrirt. Das Filtrat enthält ein halbes Volumen Harn.

2. Nach Camerer.

A. Princip. Camerer[1]) fällt den Harn mit Magnesiamischung aus, das Filtrat mit ammoniakalischer Silberlösung und bestimmt in dem Silberniederschlag den Stickstoff. Von dem gesammten Stickstoff wird der Stickstoff der gesondert bestimmten Harnsäure (= $^1/_3$ des Gewichts der Harnsäure) abgezogen, der Rest ist der Basenstickstoff; 1 g desselben ist enthalten in 2,62 g Xanthin.

Arnstein hat nachgewiesen, dass bei der vorläufigen Fällung des Harns mit Magnesiamischung kein Verlust an Harnsäure eintritt, wenn man mit dem Abfiltriren des Tripelphosphats nicht stundenlang wartet, und dass die Spur Tripelphosphat, welche in Lösung bleibt, ohne Einfluss auf die Bestimmung des Stickstoffs ist, ferner dass das Rhodansilber bei Gegenwart einer reichlichen Menge von Ammoniak in Lösung bleibt. Spuren Eiweiss schaden der Bestimmung Nichts, und Zucker nach den bei dem Verfahren von Haycraft gemachten Erfahrungen auch Nichts.

B. Erfordernisse.

1. Magnesiamischung.
2. Ammoniakalische Silberlösung, beide nach Ludwig, S. 821.
3. 20 proc. Ammoniak.
4. Die Erfordernisse zur Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl, S. 801.

1) W. Camerer, Ztschr. f. Biol. **26.** 104. 1890; **28.** 72. 1891.

C. Ausführung.

Die Grenze des Eiweissgehaltes, welchen der Harn ohne Nachtheil für die Analyse besitzen darf, liegt zwischen 0,05—0,15 %; da sich die Eiweissmenge nicht sicher schätzen und nicht schnell genug bestimmen lässt, thut man gut, jeden eiweisshaltigen Harn durch Kochen bei passend saurer Reaction vom Eiweiss zu befreien. Enthält der Harn ein Uratsediment, so filtrirt man es ab und benutzt das Filtrat sowohl für die Analyse nach Camerer wie für die gesonderte Bestimmung der Harnsäure.

Nach den Ermittelungen von Arnstein[1]) verfährt man bei der Anstellung der Analyse in folgender Weise. Es werden 240 cc Harn in einem Maasscylinder mit 30 cc Magnesiamischung versetzt und mit 20 proc. Ammoniak auf 300 cc aufgefüllt. Man kann sogleich filtriren oder den Niederschlag sich erst absetzen lassen. Vom Filtrat misst man für 2 Bestimmungen je 125 cc (= 100 Harn) ab und setzt zu jeder Probe 10 cc ammoniakalischer Silberlösung. Den Niederschlag bringt man, ohne lange zu warten, auf ein etwa 10 cm im Durchmesser haltendes Saugfilter aus aschefreiem Papier. Geht die Flüssigkeit anfangs nicht ganz klar durchs Filter, was sich nur durch eine schwache, homogene Trübung kenntlich macht, so giesst man die ersten 50 ccm des Filtrats in das Becherglas zurück, spült die Filtrirflasche einigemal mit wenig Wasser nach und vereinigt das Waschwasser mit der Flüssigkeit im Becherglase. Das Filter ist durch den bereits auf dasselbe gebrachten Niederschlag so dicht geworden, dass der Niederschlag nun vollständig zurückgehalten wird. Die Filtration geht langsam von Statten, aber von dem wiederholt empfohlenen Zusatze schwer löslicher oder unlöslicher Substanzen (Natriumbicarbonat, Calciumcarbonat, Talk) hat man keinen Vortheil. Das Becherglas wird sorgfältig mit schwach ammoniakhaltigem Wasser nachgewaschen. Wenn der Niederschlag vollständig auf das Filter gebracht ist, muss er völlig ammoniakfrei gewaschen werden. Uebergiesst man den feuchten Niederschlag mit Wasser, so geht die Filtration sehr langsam vor sich. Viel schneller und nicht minder sicher erreicht man dieses Ziel, wenn man den Niederschlag so weit trocken saugt, dass er rissig wird, und ihn erst dann zu waschen anfängt. Füllt man dabei das Filter jedesmal ganz voll mit Wasser, so verbraucht man ungefähr 250—300 cc Wasser und vollendet das Auswaschen in 10—20 Minuten. Als ammoniakfrei kann man das Filter betrachten, wenn die Waschflüssigkeit auf empfindliches Lackmuspapier nicht mehr alkalisch reagirt.

Um das Filtrat auf seine Reaction zu prüfen, verfährt man in der Weise, dass man die Filtrirflasche und alle in sie hineinreichenden Theile des Apparats gründlich wäscht, dann wieder vor der Pumpe filtrirt und nun die an der Spitze

[1]) R. Arnstein, Ztschr. f. physiol. Ch. 23. 426. 1897.

des Trichters haftende Flüssigkeit auf ihre Reaction untersucht. Der Ammoniakdampf kommt mit allen Theilen des Apparats in der Flasche in Berührung; unterlässt man die Reinigung dieser Theile, so nimmt die alkalische Reaction kein Ende, auch wenn vom Filter schon längst ammoniakfreie Flüssigkeit abgelaufen ist.

Vor der Belichtung braucht man den Niederschlag nicht ängstlich zu hüten; es ist nicht nöthig, dass man im Dunkeln filtrirt, es genügt, wenn man vom Niederschlage sehr helles Tageslicht abhält, etwa durch einen Vorhang vor dem Fenster.

Der Niederschlag enthält ausser der Harnsäure und den Xanthinbasen, wie Salkowski nachgewiesen hat, noch Ammoniak, von welchem er noch zu befreien ist, wenn die Stickstoffbestimmung nicht unrichtig ausfallen soll. Man erreicht das nach Arnstein[1]) leicht durch Kochen des Niederschlags (sammt Filter) mit Wasser und etwas Magnesia, wie §. 77. I. 3. a. S. 817) beschrieben ist. Zur Oxydation nach Kjeldahl verwendet man 15 cc Schwefelsäure, 0,5 g Kupfervitriol und 10 g Kaliumsulphat, die man gleich anfangs auf einmal zusetzt. Auf den Stickstoffgehalt des Filters braucht man keine Rücksicht zu nehmen, da ein ausgewaschenes, aschefreies Filter von der erforderlichen Grösse nur wenige Hundertstel mg Stickstoff enthält.

§. 79. Bestimmung des Kreatinins.

Für die quantitative Bestimmung des Kreatinins im Harn sind zwei schwer lösliche Verbindungen desselben benützt worden, die mit Chlorzink (von Neubauer) und die mit Quecksilberchlorid (von Kolisch und von Colls).

Der Harn soll in beiden Fällen eiweissfrei sein. — In diabetischem Harn lässt man den Zucker vergähren (§ 38. C. 2. e. S. 397) und nimmt erst dann die Operation zur Bestimmung des Kreatinins vor. Nach Senator's[2]) Vorschlag verwendet man zu einer Bestimmung 1/5 der Tagesmenge, ebenso von Harn bei Diabetes insipidus; beide dampft man, den bei Zuckerharnruhr entleerten nach der Vergährung, unter Erhaltung der sauren Reaction auf 300 cc ein

I. Nach Neubauer[3]).

A. Princip. Die Bestimmung des Kreatinins beruht auf der ausserordentlichen Schwerlöslichkeit des Kreatinin-Chlorzinks in Alkohol (§ 38. B. 4. e. S. 390).

1 Theil Kreatinin-Chlorzink löst sich in 9217 Theilen Alkohol von 98 % und in 5743 Theilen Alkohol von 87 %. — Die aus Harn dargestellte Verbindung ist nicht rein; sie enthält nach Neubauer im Mittel 94 % Kreatininchlorzink, nach Voit 91 % desselben,

B. Bereitung der Chlorzinklösung. Syrupdicke Chlorzinklösung wird in ziemlich starkem Weingeist gelöst, bis zur Dichte von 1,20 verdünnt und filtrirt.

1) Salkowski, Pflüger's Archiv **69**. 273. 1898. — Arnstein, Centralbl. f. d. med. Wissensch. 15. 1898. 257.
2) H. Senator, Virchow's Archiv **68**. 422. 1876.
3) Neubauer, Ann. d. Chem. und Pharm. **119**. 33. 1861.

C. Ausführung. 1. Nach Neubauer versetzt man 200 bis 300 cc Harn mit Kalkmilch bis zur alkalischen Reaction und fügt so lange Chlorcalciumlösung hinzu, als noch ein Niederschlag entsteht. Nach 1—2 Stunden filtrirt man, verdunstet Filtrat und Waschwasser (nach schwachem Ansäuern mit Schwefelsäure, Huppert) möglichst schnell im Wasserbade bis zum stärksten Syrup und vermischt diesen noch warm mit 40—50 cc Weingeist von 95 %. Die gründlich gemischte Masse bringt man in ein Becherglas, spült die Schale mit kleinen Mengen Weingeist nach und lässt zur völligen Ausscheidung alles Fällbaren 6—8 Stunden an einem kühlen Orte stehen. Die Flüssigkeit filtrirt man darauf durch ein möglichst kleines Filter, bringt endlich den Niederschlag auch darauf und wäscht, nachdem die Flüssigkeit vollständig abgelaufen ist, mit kleinen Mengen Weingeist nach. Ist das gesammte Filtrat viel über 60 cc geworden, so lässt man es bis auf 50—60 cc verdunsten. Nach vollständigem Erkalten setzt man jetzt $^1/_2$ cc der alkoholischen Chlorzinklösung zu, rührt längere Zeit stark um, was die Ausscheidung der Verbindung ausserordentlich befördert, und lässt darauf 2—3 Tage, mit einer Glasplatte bedeckt, in der Kälte stehen. Nach Ablauf dieser Zeit bringt man die Krystalle auf ein trockenes Glaswollfilter (Fig. 44, S. 697), oder in Ermangelung eines solchen auf ein bei 100° getrocknetes, im Trockengläschen (Fig. 47. S. 699) gewogenes Filter und benutzt zum Aufbringen immer wieder das zuerst erhaltene Filtrat. Ist alles Kreatininchlorzink auf das Filter gespült, so wäscht man, sobald die Mutterlauge vollständig abgelaufen ist, so lange mit kleinen Mengen Weingeist nach, bis dieser farblos abläuft und nicht mehr auf Chlor reagirt. — Das Auswaschen sei gründlich, aber nicht unnütz lange. — Das Filter mit dem Kreatininchlorzink wird schliesslich bei 100° getrocknet und gewogen.

Obwohl dieser Niederschlag kein reines Kreatininchlorzink ist, schlägt Neubauer dennoch vor, ihn als reine Verbindung zu betrachten, weil andererseits bei der Bestimmung Verluste statthaben, welche so einigermaassen ausgeglichen werden. Von reinem Kreatinin erhält man ungefähr 99 % wieder. 100 Theile Kreatininchlorzink enthalten 62,44 Theile Kreatinin. — Es kann auch geschehen, dass sich dem Kreatininchlorzink Kochsalzwürfel und -octaeder zugesellen. Es ist daher der gewogene Niederschlag noch mikroskopisch auf diese zu untersuchen; findet sich Kochsalz vor, so bestimmt man in dem Niederschlag das Zink oder den Stickstoff quantitativ und berechnet daraus das Kreatinin; 100 Theile Zinkoxyd entsprechen 316,5, und 100 Theile Stickstoff 269,0 Theilen Kreatinin.

2. Salkowski[1]) hat dieses Verfahren in eine bequemere und zweckmässigere Form gebracht.

Man macht 240 cc Harn im Maasscylinder mit Kalkmilch schwach alkalisch, fällt mit Chlorcalcium aus, füllt auf 300 cc auf und filtrirt

---

[1]) Salkowski, Ztschr. f. physiol. Ch. 10. 113. 1886.

nach 15 Minuten. Vom Filtrat werden 250 cc bei nur schwach alkalischer Reaction auf ungefähr 20 cc eingedampft; in den Rückstand wird dasselbe Volumen absoluter Alkohol eingerührt, dann die Mischung in ein etwas absoluten Alkohol enthaltendes, 100 cc fassendes Maasskölbchen gegossen. Die Schale spült man mit absolutem Alkohol nach, füllt das Kölbchen mit absolutem Alkohol auf 100 auf, schüttelt um und lässt die Mischung stehen. Während des Erkaltens ist das Kölbchen öfter gelinde aufzustossen, um die eingeschlossene Luft zum Aufsteigen zu bringen. Nach völligem Erkalten giesst man absoluten Alkohol bis zur Marke nach, lässt bis zum nächsten Tage stehen, filtrirt, versetzt 80 cc mit 0,5—1 cc alkoholischer Chlorzinklösung und verfährt weiter nach Neubauer. Die 80 cc alkoholischer Lösung, welche man mit Chlorzink versetzt hat, enthalten das Kreatinin von $^4/_5$ des ursprünglichen Harnvolumens. Der Niederschlag wird als reines Kreatininchlorzink in Rechnung gesetzt.

Das Verfahren hat dem Neubauer'schen gegenüber den Vorzug, dass es das Auswaschen umgeht und dass das Kreatinin aus dem Abdampfungsrückstand vollkommener in Lösung gebracht wird; der syrupdicke, nach Neubauer hergestellte Abdampfungsrückstand giebt nachweislich nicht alles Kreatinin an den Alkohol ab. Den alkoholischen Auszug lässt Salkowski nicht blos einige, sondern 20—24 Stunden, zur besseren Abscheidung des Chlornatriums stehen. Ist gleichwohl mit dem Kreatinin-Chlorzink Kochsalz ausgefallen, so löst es Salkowski, falls die Kreatininverbindung in Krusten der Glaswand fest anhaftet, in wenig Wasser und giesst die Kochsalzlösung ab. Ist die mechanische Ablösung der Verbindung von der Glaswand besonders schwierig, so kann man sie nach Salkowski in heissem Wasser lösen, in einer Schale eindampfen und ihr Trockengewicht bestimmen. Das gewogene Kreatinin-Chlorzink muss sich in heissem Wasser klar oder nur bis auf eine unbedeutende Trübung lösen und sich bei der mikroskopischen Untersuchung frei von Kochsalz erweisen. Will man den Niederschlag noch weiter auf seine Reinheit prüfen, so leitet man in seine ammoniakalische Lösung Schwefelwasserstoff, filtrirt, säuert mit Essigsäure an, verdampft in einer Platinschale und verascht; die schwach salpetersaure Lösung der Asche darf sich mit Silbernitrat nur unbedeutend trüben.

Das nach der Kalkfällung erhaltene Filtrat sollte man stets bei (schwach) saurer Reaction eindampfen, nicht sowohl, um durch die Säure etwa vorhandenes Kreatin in Kreatinin überzuführen, sondern um der Umwandlung von Kreatinin in Kreatin und somit Verlusten vorzubeugen. Diese Umwandlung erfolgt auch in neutraler Lösung (§ 38. B. 7. S. 391). Aus dem Kalkfiltrat erhielt Salkowski wenn es bei saurer Reaction eingedampft wurde bis 19 %, im Mittel 11 %, mehr Kreatinin als aus dem bei schwach alkalischer Reaction eingedampften Filtrat. Hat man das Kalkfiltrat mit einer Mineralsäure angesäuert, so fügt man dem abgemessenen Theil des Alkoholauszugs vor oder nach dem Zusatz des Chlorzinks etwas essigsaures Natron zu.

3. Nach einer anderen Vorschrift von Salkowski[1]) soll man 300 cc Harn mit 10 cc concentrirter Schwefelsäure auf ein Drittel eindampfen, filtriren und nachwaschen, das Filtrat mit Barymhydrat ausfällen, den Niederschlag waschen, die Flüssigkeit mit Salzsäure neutralisiren und eindampfen, den Rückstand mit 95 proc. Alkohol ausziehen, die Lösung auf 100 cc auffüllen, dann 80 cc davon mit etwas essigsaurem Natron und 20 Tropfen alkoholischem Chlorzink versetzen. Doppelbestimmungen ergaben im Ganzen erträgliche Resultate.

1) Salkowski und Ken Taniguti, Ztschr. f. physiol. Ch. **14**. 471. 1890.

4. Albanese[1]) fällt den Harn in Gegenwart von Ammoniak mit Bleiessig aus, entfernt aus dem Filtrat das überschüssige Blei mit Schwefelsäure, neutralisirt und dampft auf dem Wasserbad zum Syrup ein; der Rückstand wird mit Alkohol ausgekocht, die Lösung verdunstet, der Rückstand in wenig Wasser gelöst und die Lösung mit Schwefelsäure und Phosphorwolframsäure gefällt (§ 38. B. 3., S. 389). Der Niederschlag wird gut ausgewaschen, mit Baryumhydrat zerlegt, der in der Lösung befindliche Baryt mit Kohlensäure entfernt. Man dampft dann ein, löst den Rückstand in Alkohol und fällt mit alkoholischer Chlorzinklösung. Wenn man die Phosphorwolframsäure zur vorläufigen Abscheidung benutzen will, was vor den beschriebenen Methoden gewisse Vorzüge hätte, so wäre der Harn nach Hofmeister direkt (nach § 38. C. 2. c. S. 397) mit Phosphorwolframsäure zu fällen.

II. Nach Kolisch[2]).

A. Princip. Das Kreatinin wird aus alkoholischer Lösung in Gegenwart von Natriumacetat mit alkoholischem Quecksilberchlorid ausgefällt (§ 38. B. 4. e. S. 390), im Niederschlag der Stickstoff nach Kjeldahl (§ 74. S. 801) bestimmt und aus der Stickstoffmenge durch Multiplication mit 2,69 die Menge des Kreatinins berechnet.

B. Erforderniss.

Eine Lösung von 30 g Quecksilberchlorid, 1 g Natriumacetat und 3 Tropfen Eisessig in 125 g (= 157,4 cc) absolutem Alkohol. Der Gehalt der Lösung an Natriumacetat ist so gering bemessen, weil bei der Verarbeitung des Harns nach C. essigsaures Salz in die Flüssigkeit gelangt, welche gefällt werden soll.

C. Ausführung. Es werden 200 cc Harn mit Kalkmilch und Chlorcalcium (zusammen 20 cc) ausgefällt. Vom Filtrat werden 200 cc mit Essigsäure angesäuert und unter Erhaltung der sauren Reaction zum Syrup eingedampft, der Rückstand noch heiss mit Alkohol vermischt und 4—5 mal mit Alkohol ausgezogen. Nach dem Erkalten wird die Flüssigkeit mit Alkohol auf ein rundes Volumen gebracht, filtrirt und vom Filtrat eine abgemessene Menge mit der Sublimatlösung ausgefällt. Der Niederschlag wird sofort auf das Filter gebracht und mit absolutem Alkohol, dem etwas Natriumacetat und einige Tropfen Essigsäure zugesetzt sind, so lang gewaschen, bis im Filtrat beim Neutralisiren kein Niederschlag (von Harnstoff-Quecksilberoxyd, § 32. A. 5. S. 296) mehr entsteht. Zur Stickstoffbestimmung wird der Niederschlag sammt dem Filter verwendet.

Wegen des Quecksilbergehalts der Verbindung muss die Stickstoffbestimmung in etwas anderer Weise ausgeführt werden, als wie sie für den Harn (S. 801) beschrieben worden ist. Der Zusatz von Kupfersulphat ist überflüssig; man versetzt nur mit 15 cc Schwefelsäure und 10 g Kaliumsulphat. Bei der Oxydation entsteht Mercuramid, welches bei der Destillation mit Lauge das Ammoniak nicht vollständig abgiebt. Um es zu zerlegen, fügt man der Flüssigkeit im Destillationskolben noch 40 cc einer Lösung von 40 g Schwefelkalium (Kalium sulfuratum depuratum) im Liter hinzu.

---

[1]) M. Albanese, Arch. f. exper. Pathol. **35**. 453. 1895.
[2]) R. Kolisch, Centralbl f. innere Med. **16**. 265. 1895.

III. Nach Johnson.

Colls[1]) hält den Niederschlag, den man nach dem Verfahren von Johnson (§ 38. C. 2. b. β. S. 396) mit Quecksilberchlorid aus dem Harn erhält, wie Johnson selbst, für die Bestimmung des Kreatinins für geeignet. Der Niederschlag $4\,(C_4H_7N_3O, HCl, HgO)\,3\,HgCl_2 = 4\,(C_4H_5HgN_3O, HCl)\,3\,HgCl_2, 4\,H_2O$ wird nach Colls gesammelt, getrocknet und gewogen. Wenn der Niederschlag beim Trocknen 4 Mol. Wasser verliert, so enthält die trockene Verbindung 20,46 % Kreatinin.

§ 80. Bestimmung des Kreatins.

Die von Meissner sowie von Voit und Zantl gebrauchten Methoden zur Isolirung des Kreatins aus Harn sind § 37. C. S. 385 angegeben. Das Kreatin wird auf trockenen und gewogenen Filtern gesammelt, getrocknet und gewogen.

§. 81. Bestimmung des Eiweisses.

I. Bestimmung des Gesammteiweisses.

1. Durch Coagulation bei geeignet saurer Reaction und Wägen.

A. Nach Scherer.

A. Princip. Es wird ein bestimmtes Volumen Harn, welchem der für die vollständige Coagulation des Eiweisses geeignete Grad der sauren Reaction ertheilt worden ist, zum Sieden erhitzt, das Coagulum auf einem trocknen und gewogenen Filter gesammelt, ausgewaschen, getrocknet und mit dem Filter wieder gewogen. Die Gewichtszunahme des Filters ergiebt die Menge des Eiweisses, welches aus dem in Arbeit genommenen Volumen Harn abgeschieden wurde.

B. Ausführung. Man hat den Harn, wenn er trüb ist nach dem Filtriren, mit so viel Essigsäure zu versetzen, dass das Filtrat einer gekochten Probe mit Essigsäure und Ferrocyankalium keinen Niederschlag mehr giebt. Man nimmt (für 2 Bestimmungen) 0,5—1 Liter in Arbeit und versetzt ihn, wenn er nicht schon blos sauer reagirt, tropfenweise bis zum völligen Verschwinden der alkalischen Reaction mit starker (30 oder 50 proc.) Essigsäure. Jetzt nimmt man die erste Reaction vor. Man stellt dazu das Reagensglas mit einigen Cubikcentimetern Harn in siedendes Wasser, verschliesst das Glas, wenn die Coagulation eingetreten ist, und schüttelt auf. Beim Einfüllen der Probe in das Reagensglas lässt sich ein Benetzen der obern Wand nur schwer vermeiden; unterlässt man das Aufschütteln, so kann es geschehen, dass beim nachfolgenden Filtriren Harn mit uncoagulirtem Eiweiss mit in das Filtrat gelangt, und man setzt sich so der Gefahr aus, Eiweiss im Filtrate zu finden, auch wenn der erhitzte Theil keines

---

[1]) P. C. Colls, Journ. of Physiol. 20. 107. 1896.

mehr gelöst enthält. Dann kocht man die Probe über freier Flamme, filtrirt, nöthigenfalls durch mehrmaliges Aufgiessen des Filtrats auf dasselbe Filter, und prüft das klare Filtrat in angegebener Weise. Ist, wie in der Regel, noch Eiweiss vorhanden, so versetzt man den Harn noch mit 1—2 Tropfen Essigsäure und stellt eine neue Probe an. Den weitern Zusatz der Essigsäure bemisst man nach dem Grade, in welchem das Eiweiss im Filtrate abnimmt. Vermindert es sich nicht merklich, so setzt man dem Harn nicht nur einen Tropfen Essigsäure hinzu, sondern gleich mehrere, 3 bis 5, auf einmal. Nur gegen das Ende muss man mit dem Essigsäurezusatz vorsichtig sein. Uebersäuert wird der Harn, wenn man nach dieser Vorschrift verfährt, nicht leicht. Die Verdünnung, welche der Harn durch den Zusatz von Essigsäure erfährt, ist eine so minimale, dass sie vernachlässigt werden kann; für 1 Liter von Haus aus sauren Harn können 24—28 Tropfen 50 proc. Essigsäure genügen.

Zur Coagulation misst man von dem Harn soviel in ein Becherglas ab, dass der Eiweissniederschlag womöglich nicht mehr als 0,2—0,3 g beträgt, von eiweissarmen Harnen also 100 cc, von eiweissreicheren entsprechend weniger. Nach einiger Erfahrung lernt man leicht den Eiweissgehalt eines Harns nach der im Reagensglas vorgenommenen Probe annähernd schätzen. Kleine Volumina Harn verdünnt man vor der Coagulation mit Wasser. Man erhitzt dann den Harn erst in siedendem Wasser, bis sich Flocken abgeschieden haben und kocht noch einmal vorsichtig, so dass die Flüssigkeit nicht überläuft, über freier Flamme auf. Es wird dann zuerst die Flüssigkeit durch ein bei 110—120° getrocknetes und nach dem Erkalten im Exsiccator gewogenes Filter aus aschefreiem Papier abgegossen, darauf der Niederschlag vollständig auf das Filter gebracht, mit heissem Wasser chlorfrei und dann noch mit Alkohol und mit Aether gewaschen. Zum Abreiben des an der Glaswand haftenden Eiweisses bedient man sich eines Glasstabs, über dessen Spitze ein kurzer Kautschukschlauch gezogen ist. Man thut gut, den Niederschlag in einem Zuge auf das Filter zu bringen, weil bei längerer Unterbrechung der Filtration die über der Flüssigkeit befindlichen Theile des Coagulums so fest auf der Glaswand auftrocknen, dass man grosse Mühe hat, sie wieder vollständig abzulösen. Nach vollständigem Auswaschen trocknet man das Filter wieder bei 110 bis 120° bis zur Gewichtsconstanz und wägt nach dem Erkalten abermals.

Für genaue Bestimmungen muss das Coagulum noch mit Alkohol und mit Aether von Fett befreit und der Aschegehalt des getrockneten Niederschlags bestimmt werden. Die Asche ist vom Gewicht der Trockensubstanz in Abzug zu bringen. Man nimmt das Veraschen in einem Platintiegel vor, den man, um das Ueberschäumen des beim Erhitzen

stark aufquellenden Gerinnsels zu verhindern, anfangs nicht am Boden, sondern an der Wand erhitzt.

Bei guten Doppelbestimmungen brauchen die Resultate nicht mehr als um 1 % des Eiweisses von einander abzuweichen.

1. Die ältere, noch häufig gegebene und befolgte Vorschrift, ein abgemessenes Volumen Harn zum Kochen zu erhitzen und so lang mit verdünnter (2 proc.) Essigsäure zu versetzen, bis die Eiweissflocken scharf abgegrenzt und die Flüssigkeit zwischen den Flocken wasserklar ist, führt nicht zu genauen Resultaten. Die Eiweissmengen aus zwei so hergerichteten Proben stimmen nicht gut überein und in den Filtraten ist in der Regel noch Eiweiss nachweisbar.

2. Es ist zweckmässig, das Filter sowohl leer wie mit dem Niederschlag in einem Glaswolltrichter (Fig. 44. S. 697) zu trocknen. Das leere Filter nimmt so in einigen Stunden, das Filter mit dem Niederschlag, wenn dieser nicht übertrieben gross ist, schon in 24—30 Stunden constantes Gewicht an, während das Trocknen des Niederschlags im Trockengläschen bis zu diesem Punkte ununterbrochen mindestens 8 Tage erfordert und das Papier dabei braun wird, also jedenfalls sein ursprüngliches Gewicht nicht behält. Verascht wird der Niederschlag mit dem Filter.

Durch das Waschen des Coagulums mit Alkohol und mit Aether entfernt man nicht blos in dem Niederschlag etwa enthaltenes Fett und andere in diesen Lösungsmitteln lösliche Substanzen, sondern erreicht auch, dass sich der Niederschlag beim Trocknen nicht, wie der nur mit Wasser gewaschene, in eine hornartige Masse verwandelt, sondern locker bleibt, wodurch das Trocknen des Niederschlags sehr beschleunigt wird; überdem färbt sich auch ein so behandelter Niederschlag beim Trocknen weniger dunkel.

Bei vergleichenden Bestimmungen muss man die Niederschläge immer bei derselben Temperatur trocknen, weil bei relativ niederer Temperatur getrocknete Niederschläge in höherer Temperatur wieder Wasser abgeben, also leichter werden. Trocknet man ein und denselben Niederschlag bei verschiedenen Temperaturen, so ist es schwer, Gewichtsconstanz zu erlangen.

3. Um das zeitraubende Trocknen und wiederholte Wägen des Coagulums zu ersparen, sind verschiedene Vorschläge gemacht worden.

a. Nahe liegt der Gedanke, in dem ausgewaschenen Gerinnsel den Stickstoff nach Kjeldahl (§ 74. S. 801) zu bestimmen und aus dem gefundenen Ammoniak oder Stickstoff die Eiweissmenge zu berechnen. Sebelien[1]) hat sich dieses Verfahrens in ausgedehntem Maasse bedient. Die Genauigkeit der Bestimmung hängt aber u. A. davon ab, welchen Stickstoffgehalt man dem Eiweiss zuschreibt. Starke fand im Serumalbumin (des Menschen) 15,88 % Stickstoff, Hammarsten im Serumglobulin 15,85 %. Darnach erhält man die Eiweissmenge, wenn man das Gewicht des gefundenen Stickstoffs mit 6,3 multiplicirt.

b. Bornhardt bestimmt das Gewicht des ausgewaschenen Niederschlags mittelst des Pyknometers. Das Verfahren setzt die Kenntniss der Dichte des coagulirten Eiweisses voraus; sie beträgt nach Bornhardt 1,314; darnach würde 1 cc Eiweiss 1,314 g wiegen, also um 1,314—1,0 = 0,314 g mehr, als 1 cc Wasser. Ein mit Eiweiss und Wasser gefülltes Pyknometer wiegt demnach mehr als ein blos mit Wasser gefülltes. Die Gewichtszunahme des Pyknometers, dividirt durch 0,314, giebt die Anzahl Cubikcentimeter Eiweiss, welche in dem Pyknometer enthalten sind; da nun aber 1 cc Eiweiss 1,314 g wiegt, so erfährt man das Gewicht des Eiweisses, wenn man die Cubikcentimeter Eiweiss (den vorher erhaltenen Quotienten) mit 1,314 multiplicirt. Bezeichnet man die Gewichtsdifferenz zwischen dem Eiweiss und Wasser sowie dem blos Wasser enthaltenden Pyknometer mit D, so erhält man also das Gewicht des vorhandenen Eiweisses nach $\frac{1{,}314\,D}{0{,}314} = 4{,}1847\,D$.

1) Sebelien, Ztschr. f. physiol. Ch. **13**. 135. 1889.

Nach Stolnikoff[1]) ergab die Bestimmung des Eiweisses nach diesem Verfahren so geringe Unterschiede gegenüber den Wägungen, dass die Methode für klinische Zwecke brauchbar erscheint.

Bei dieser Bestimmung wird das Eiweiss ebenso coagulirt, wie für die direkte Wägung, aber das Coagulum darf nur mit heissem Wasser gewaschen werden; nach dem Waschen spritzt man das Eiweiss in ein Pyknometer, das dem Fig. 34. S. 665 abgebildeten ähnlich ist, aber einen weiten, nicht eingeschnürten Hals mit Marke haben muss und mit einem Glasstopfen verschlossen werden kann. Das Wasser, mit welchem das Pyknometer gewogen wird, sowie Eiweiss und Wasser, sollen bei den beiden Wägungen die gleiche Temperatur (20°) haben.

Ob diese Abänderungen bei der Leichtigkeit, mit welcher man die Eiweissniederschläge nach (2) trocken erhalten kann, bequemer sind als die Wägungsbestimmung und wesentlich Zeit sparen, ist doch wohl sehr zweifelhaft. Jedenfalls hängt aber die Dichte des Eiweisses und damit die Menge des nach diesem Verfahren bestimmten Eiweisses, wie bei der Bestimmung durch Wägen, von der Temperaturhöhe, bei welchem der Niederschlag getrocknet wird, und von der Dauer des Trocknens ab. C. Schmidt giebt die Dichte des in Lösung befindlichen Eiweisses zu 1,2746 an, aus den Bestimmungen von Lohnstein ergiebt sie sich zu 1,278 und Huppert u. Záhoř[2]) fanden sie im Mittel von 20 Bestimmungen zu 1,3747 (1,352—1,405).

B. Nach Devoto[3]).

In sauer reagirendem Harn wird in der Wärme auf 100 cc 75 g Ammonsulphat aufgelöst und die Auflösung noch 30—40 Minuten in einem Dampftopf erhitzt. Man filtrirt durch ein getrocknetes und gewogenes Filter, wäscht aus, trocknet und wägt; vom Trockengewicht wird die Asche abgezogen.

Das Verfahren hat vor dem von Scherer den Vorzug, dass das Eiweiss aus seinen Lösungen bei jedweder Reaction vollständig abgeschieden wird; sauer soll der Harn sein, weil er dann die Phosphate in Lösung enthält. Während das Verfahren bei natürlichen Eiweisslösungen vorzüglich ist, besteht bei Harn die Gefahr, dass Harnsäure als Ammonurat mit ausfällt. Redelius[4]) erhielt aus eiweissfreien Harnen von 1,019—1,035 Dichte auf 100 cc 0,0034—0,0275 g organische Substanz, aus Harnen von 1,0355—1,060 Dichte 0,073—0,1105; wenn der Niederschlag mit heissem Wasser noch einige Zeit nach dem Verschwinden der Schwefelsäurereaction weiter ausgewaschen wird, kann die Menge der organischen Substanz noch vermindert werden. Vergleichende Bestimmungen nach Scherer und nach Devoto ergaben bei Devoto eine absolute Vermehrung von 0,013—0,077 %. Der absolute Fehler bei Devoto ist also gering und in gewöhnlichen Fällen ohne Belang, kann aber bei eiweissarmen und concentrirten Harnen erheblich werden.

---

1) A. Bornhardt, Archiv f. klin. Med. **16**. 222; Ztschr. f. analyt. Ch. 16. 124. — J. Stolnikoff, Petersburger med. Wochenschrift 6. 1876.

2) C. Schmidt, Charakteristik der epidemischen Cholera, Leipzig und Mitau 1850. 26. — Th. Lohnstein, Pflüger's Archiv **59**. 498. 1895. — Huppert u. Záhoř, Ztschr. f. physiol. Ch. **12**. 472. 1888.

3) L. Devoto, Ztschr. f. physiol. Ch. **15**. 474. 1891.

4) H. Redelius, Upsala Läkareförenings Forh. **27**; Jahresb. 1892. 241.

2. Andere Fällungsmethoden.

A. Lecerf[1]) fällt das Eiweiss aus 50 cc Harn durch Kochen mit Natronsulphat und Essigsäure (§ 43. I. C. 2. b. S. 434), bestimmt in dem ausgewaschenen Niederschlag den Stickstoff nach Kjeldahl und berechnet das Eiweiss durch Multiplication des Gewichts Stickstoff mit 6.24. — Der Niederschlag besteht aus Acidalbumin und geht beim Wegwaschen des Salzes wieder theilweise in Lösung. Der richtige Faktor, mit welchem zu multipliciren wäre, ist 6,3 (I. 1. A. B. 3. a. S. 842).

B. Girgensohn versetzt eine bestimmte Quantität Harn mit dem halben Volumen einer 20procentigen Kochsalzlösung und fügt darauf so viel Tanninlösung hinzu, als zur vollständigen Fällung des Eiweisses erforderlich ist. Man soll dann den Niederschlag auf einem gewogenen Filter erst mit destillirtem Wasser bis zum Verschwinden der Chlorreaction und sodann mit kochendem Alkohol so lange waschen, bis sich in dem Filtrat kein Tannin mehr nachweisen lässt. Der Rückstand soll getrocknet und gewogen werden. In der vorliegenden Form ist das Verfahren für die Eiweissbestimmung schon darum nicht geeignet, weil nach Sebelien[2]) aus Lösungen von reinem Albumin Tannin zwar alles Albumin fällt, beim Auswaschen der Niederschläge mit Alkohol aber wieder stickstoffhaltige Substanz in Lösung geht. Nach Sebelien fällt man mit Almén'scher Tanninlösung (S. 421) in der Kälte und wäscht mit kaltem Wasser aus. Die Wägung des Niederschlags ist unthunlich, weil der Niederschlag das Tannin in wechselnder Menge enthält. Aus dem nach Kjeldahl ermittelten Stickstoffgehalt des Niederschlags lässt sich die Eiweissmenge mit dem Factor 6,3 (S. 842) berechnen, wenn man sicher ist, dass der Niederschlag ausser Eiweiss keine andere stickstoffhaltige Substanz (Harnsäure u. a.) enthält.

C. Nach Méhu setzt man zu 100 cc Harn, die nicht mehr als 0,2—0,4 g Eiweiss enthalten dürfen, 2 cc Salpetersäure und darauf 10 cc einer Mischung von gleichen Theilen krystallisirtem Phenol und Eisessig mit zwei Theilen Alkohol von 90 %. Man filtrirt, wäscht zuerst mit Wasser, dem 1/2 % Phenol zugesetzt ist, später mit alkoholhaltigem Wasser aus, trocknet bei 110° C., wägt und verascht. Das Phenol lässt sich aus dem Niederschlag wieder vollständig auswaschen (Boillat), die Trockensubstanz ist blos Eiweiss. Méhu fand unter der Annahme, dass alles Organische Eiweiss sei, durchschnittlich 93 % des Eiweisses wieder. — Prüfungen von Schacht ergaben, dass die Méhu'sche Methode, namentlich bei Harnen mit geringem Eiweissgehalt, der unter I. 1. A. beschriebenen gegenüber keinerlei Vorzüge hat. — Nach Reuss bilden sich (in serösen Flüssigkeiten) zwar schöne Flocken, die sich leicht abfiltriren lassen, aber beim Auswaschen zu einer Gallerte aufquellen, welche zum Theil mit filtrirt. — Nach Ruizand[3]) hat man beim Auswaschen mit Phenollösung um so grössere Verluste, je concentrirter die Phenollösung ist; bei Verwendung einer 3—4 proc. wässerigen Phenollösung verliert man jedoch nur Spuren Eiweiss und der Niederschlag wird auch nicht schleimig.

D. Esbach versetzt 20 cc Harn mit eben so viel seiner Pikrinsäurelösung (§ 43. I. C. 3. i. S. 437), erwärmt die Mischung im Wasserbad, filtrirt, wäscht aus, trocknet und wägt; von dem Niederschlag werden 0,8 als Eiweiss gerechnet.

---

1) Ch. Lecerf. Chem. Centralbl. 1888. 503; Ztschr. f. analyt. Ch. 28. 134.

2) Girgensohn, Arch. f. klin. Med. 11. 613. — Sebelien, Ztschr. f. physiol. Ch. 13. 143. 1889.

3) Méhu, Arch. gén. de méd., März 1869; Journ. de pharm. et de chim. 1869. 95; Ztschr. f. analyt. Chem. 8. 522. — Boillat, Journ. f. prakt. Ch. [2] 25. 305. 1882. — Schacht, Arch. d. Pharm. 139. 19. — A. Reuss, Archiv f. klin. Med. 24. 584. 1879. — A. Ruizand, Journ. de pharm. et de chimie [5] 29. 364; Chem. Centralbl. 1894. 1. 1100.

E. Nach Obermayer[1]) fällt man mit überschüssiger Trichloressigsäure, wäscht den Niederschlag mit säurehaltigem Wasser aus und unterwirft ihn einer sorgfältigen Extraction mit Alkohol und mit Aether.

F. Nach Liborius versetzt man 50—100 cc Harn in einem Becherglase mit dem 4—5 fachen Volumen Alkohol von 85 %. Nach 24 Stunden sammelt man den grobflockigen Niederschlag auf einem Filter, wäscht aus, trocknet bei 110—115° und wägt. Vom Trockengewicht ist noch die nicht unbedeutende Aschenmenge abzuziehen. — Wassiljew[2]) erwärmt den Harn mit 4—5 Vol. Alkohol 10 Min. in heissem Wasser, filtrirt heiss und wäscht den Niederschlag mit Alkohol; der Aschegehalt desselben beträgt nicht mehr als 1 %. — Liborius erhielt nach seinem Verfahren stets mehr Eiweiss, als nach dem von Scherer oder mit dem von Scherer im Wesen gleichen von Berzelius, offenbar, weil Eiweiss nicht die einzige organische Substanz ist, welche durch Alkohol aus dem Harn niedergeschlagen wird.

3. Indirecte Bestimmungsweisen.

Das Bedürfniss der Aerzte hat das Verlangen nach Methoden hervorgerufen, nach welchen sich das Eiweiss, wenn auch nicht so genau wie durch Wägen, doch schneller, mit weniger Hilfsmitteln und mit geringeren Ansprüchen an die technische Fertigkeit des Analytikers bestimmen lässt. Von den in Vorschlag gebrachten Methoden kommt die densimetrische in der Genauigkeit der Wägungsmethode am Nächsten; sie erfordert aber sorgfältige Arbeit und braucht mehr Zeit, als eine der übrigen indirekten Methoden. Von den anderen geben die optische Methode von Christensen und das Verfahren von Roberts-Stolnikoff (Brandberg) Resultate von ungefähr gleichem Werthe, beide sind aber noch weniger genau als die densimetrische Methode. Das Verfahren von Esbach ist zu Bestimmungen der absoluten Eiweissmenge überhaupt nicht zu brauchen, zu der der relativen Mengen aber auch nur dann, wenn es unter gleichbleibenden Bedingungen ausgeführt wird. Die Bestimmung aus der Abnahme des Stickstoffgehalts des Harns durch die Coagulation scheint brauchbar zu sein.

A. Die densimetrische Methode.

A. Princip. Bestimmt man die Dichteabnahme, welche der Harn bei der Entfernung des Eiweisses aus ihm durch Coagulation (I. 1. A.) erleidet, so erfährt man, wieviel g Eiweiss der Harn in 100 cc enthalten hat, wenn man die Dichteabnahme mit 400 (Záhor'scher Faktor) multiplicirt.

Lang ist zuerst auf den Gedanken gekommen, es werde sich das Eiweiss des Harns aus der Dichteverminderung berechnen lassen, welche der Harn bei der Coagulation erfährt; der gefällten Eiweissmenge werde eine bestimmte Dichteverminderung entsprechen und mit dieser Verhältnisszahl als Faktor sei dann der Dichteunterschied zu multipliciren, um das Gewicht des Eiweisses zu erfahren.

---

[1]) Fr. Obermayer, Wiener med. Jahrbücher 1888. 375; Jahresb. f. Thierch. 1889. 7.

[2]) P. Liborius, Archiv f. klin. Med. 10. 319. 1874. — N. Wassiljew, St. Petersburger med. Wochenschr. 37. 1896; Jahresb. f. Thierch. 1897. 376.

Lang, sowie Haebler und Bornhardt, welche die Angaben von Lang einer Prüfung unterzogen, nahmen den Faktor als constant an. Budde wies aber aus der Theorie des Vorgangs nach, dass der Faktor von den Dichten der Flüssigkeit vor und nach der Entfernung des Eiweisses abhängig, also mit diesen Grössen variabel sei, was von Huppert und Záhoř durch den Versuch bestätigt wurde. Huppert hat dann aus diesen Beobachtungen empirische Faktoren entwickelt, in welchen dem Einfluss der Anfangs- und der Enddichte Rechnung getragen wird. Spätere Untersuchungen von Záhoř[1]) ergaben aber, dass für Harn, da bei dem geringen Eiweissgehalt des Harns die beiden Dichten nicht so weit auseinander liegen, wie bei anderen concentrirteren Eiweisslösungen, recht wohl ein constanter Faktor anwendbar ist.

Aus den Beobachtungen von Lang berechnet sich der Faktor zu 367, Haebler hat ihn zu 210 gefunden, aus den Bestimmungen von Bornhardt ergiebt er sich zu 435, aus denen von Budde im Mittel zu 421. Záhoř nimmt ihn zu 400, Lohnstein[2]) zu 360 an. Die Unterschiede in der Grösse des Faktors sind, abgesehen von dem Haebler's begründet in dem Grad der Genauigkeit, mit welcher die Dichteabnahme und die Eiweissmenge bestimmt und bei welcher Temperatur das Eiweiss getrocknet wurde. In den Beobachtungen von Záhoř wurden die Dichten mit den Sprengel'schen Pyknometer ermittelt und das Eiweiss mit aller Sorgfalt nach den I. 1. A. B. angeführten Regeln bestimmt. Deshalb habe ich dem Faktor von Záhoř den Vorzug gegeben. Das Eiweiss wurde von Záhoř bei 120—130° getrocknet und der Factor gilt daher auch nur für solches.

C. Ausführung. Der Harn wird nach I. 1. A. B. mit soviel Essigsäure versetzt, als zur vollständigen Fällung des Eiweisses beim Kochen erforderlich ist. Von dem so zur Coagulation hergerichteten Harn wird die Dichte bestimmt. Es wird ferner dieser vorbereitete Harn zum Kochen erhitzt, so jedoch, dass er dabei durch Verdunstung von Wasser keine Aenderung seiner Dichte erleidet. Zu diesem Zwecke füllt man den Harn in eine Medicinflasche von 200—300 cc Inhalt und bindet in sie einen weichen Kautschukstopfen so ein, wie die Korke in den Sodawasserflaschen befestigt sind; die Stopfen müssen vorher mit Natronlauge ausgekocht und darauf wieder bis zum völligen Verschwinden der alkalischen Reaction gewaschen werden; die Flasche stellt man in ein Gefäss mit Wasser, bringt dieses zum Kochen, erhält 10—15 Minuten im Sieden und hebt die Flasche dann aus dem Wasser. Nach dem Erkalten wird, wieder unter Verhütung des Verdunstens, filtrirt. Man hat dazu einen Trichter mit einem durchbohrten Kork in eine Flasche gepasst, in den Trichter wird ein Faltenfilter gelegt und der Trichter mit einer Glasplatte bedeckt gehalten. — Man kann den Harn auch in einem offenen Gefäss kochen, muss aber dann nach dem Erkalten das ursprüngliche Gewicht durch vorsichtigen Zusatz von Wasser wieder herstellen.

---

[1]) G. Lang, Orvosi Szemle (Ungarische med. Ztschr.) 2. Jahrg. 1862. — M. Haebler, Arch. f. Anat. etc. 1868. 397. — Bornhardt, Berlin. klin. Wochenschr. 34. 1869. 364. — Budde, Bibliothek for Laeger **20**. Januar 1870; Hospitals Tidende, 28 und 29 1870. — Huppert u. Záhoř, Ztschr. f. physiol. Ch. **12**. 467. — Záhoř, das. **12**. 484.

[2]) Th. Lohnstein, Pflüger's Archiv **59**. 479. 1895; **60**. 136.

Die Dichte des für die Coagulation vorbereiteten Harns und die des Filtrats bestimmt man am Sichersten mit einem Sprengel'schen Pyknometer (Fig. 35. u. 36. S. 666 u. 667), weil die Bestimmung um so genauer wird, auf je mehr Decimalen man die Dichten sicher ermittelt hat. Bei Verwendung von Aräometern werden die Resultate minder genau. Die Aräometer, welche dazu gebraucht werden sollen, sind nur dann geeignet, wenn sie die Dichte bis auf die 4. Decimale angeben und wenn sie geaicht sind. Lohnstein hat sich dazu seines Aräometers (S. 662) bedient. — Harn und Filtrat müssen bei der Dichtebestimmung dieselbe Temperatur haben.

Die 14 von Zahor untersuchten Harne enthielten im Mittel 0,3483 % (0,0631—0,7634) Eiweiss. Die nach der densimetrischen Methode erhaltenen Resultate wichen von der Wägungsbestimmung um —0,0364 bis +0,0544 g oder im Mittel um 6,5 % (0,9—24,6) ab; 9 mal betrug die Abweichung 0,9—4,3 %, 1 mal 8,1, 3 mal 12,2—13,7 und 1 mal, bei der kleinsten Eiweissmenge, 24,6 %.

B. Aus der Abnahme des Stickstoffs bei der Coagulation.

Van Nuys u. Lyons sowie Mann[1]) bestimmen in eiweisshaltigem Harn den Stickstoff nach Kjeldahl (S. 801), in einem gleichen Volumen enteiweissten Harn gleichfalls und berechnen aus der Stickstoffdifferenz die Menge des Eiweisses, wozu der Faktor 6,3 zu verwenden ist (S. 842). Die Genauigkeit der Bestimmung hängt u. A. ab von der Genauigkeit, mit welcher das Eiweiss aus dem Harn abgeschieden wird.

Van Nuys u. Lyons fällen den filtrirten Eiweissharn mit dem gleichen Volumen Almén'scher Tanninlösung (S. 421) und verwenden ein abgemessenes Volumen Filtrat für die Analyse. Der eiweisshaltige Harn wird mit seinem Volumen Wasser verdünnt und dann ein ebenso grosses Volumen wie vom Filtrat nach der Eiweissfällung für die Analyse abgemessen. Van Nuys u. Lyons multiplicirten die Differenz mit 6,37; es ergab sich gegen die Wägungsbestimmung ein durchschnittlicher (absoluter) Fehler von 0,0092 % bei einem Eiweissgehalt von 0,0506—1,1293 %; der grösste Fehler betrug 0,0357 % bei einem Eiweissgehalt von 0,4399 %, der kleinste Fehler 0,0006 % bei einem Eiweissgehalt von 0,0506 % Eiweiss. Harnsäure wird auch aus harnsäurereichem Harn durch Almén'sche Lösung nur in kleinen Mengen gefällt.

C. Refractometrisch.

Ellinger[2]) verwendet das Oleorefractometer von Amagat und Jean, ein Differenz-Refractometer. Es wird der eiweisshaltige Harn, und der durch Kochen bei passend saurer Reaction vom Eiweiss be-

---

[1]) T. C. van Nuys u. B. E. Lyons, Amer. chem. Journ. **12**. 336; Chem. Centralbl. 1890. **2**. 121. — F. Mann, Ztschr. f. klin. Med. **20**. 107. 1892.

[2]) H. O. G. Ellinger, Journ. f. prakt. Ch. [2] **44**. 256. 1891.

freite Harn nach Ersatz des beim Kochen verdunsteten Wassers untersucht. In das Prisma des Apparats kommt der eiweisshaltige, in das Gefäss mit den parallelen Glaswänden der enteiweisste Harn. Vorher war auf den Nullpunkt eingestellt, wozu beide Gefässe mit ein und derselben Flüssigkeit gefüllt waren. Bei der Verwendung der beiden Harne rückt die Grenzlinie zwischen hell und dunkel nach rechts, und der Grad dieser Abweichung vom Nullpunkt lässt sich an einer Scala ablesen. Ein Skalentheil giebt 0,106 % Eiweiss an. Bei 5 Bestimmungen betrug der mittlere Fehler 0,008 %, der grösste Fehler + 0,017 und — 0,020 %.

Nach Riegler[1]) fällt man aus 50 cc Harn (von eiweissarmem aus 100 bis 200 cc) das Eiweiss durch Zusatz von 5 cc saurer Asaprollösung (§ 43. I. C. 3. g. S. 437), erwärmt auf 60°, wäscht den Niederschlag mit 150 cc Wasser aus, presst ihn ab und löst ihn in 25 cc $^1/_{10}$ n Kalilauge Diese Lösung wird mit dem Refractometer von Pulfrich untersucht. Um von der Temperatur unabhängig zu sein, wird sofort auch der Brechungsexponent der Lauge ermittelt. Wenn man die Differenz der beiden Brechungsexponenten in ganzen Zahlen ausdrückt, so beträgt sie für 1 g Eiweiss 540.

D. Die optische Methode.

Die optische Methode ist in verschiedener Form von Vogel, von Esbach und von Christensen auf die Bestimmung des Eiweisses angewendet worden. Von diesen Verfahrungsweisen wurden nur die von Vogel und von Christensen einer eingehenderen Prüfung auf ihre Genauigkeit unterzogen.

1. Christensen[2]) schätzt die Eiweissmenge aus dem Trübungsgrad, welchen mit Gerbsäure versetzter Harn zeigt. Es wird immer dasselbe Volumen Harn mit Gummi- und Gerbsäurelösung versetzt und wieder auf ein anderes bestimmtes Volumen verdünnt. Die Gerbsäurelösung wird hergestellt durch Lösen von 1 Theil Tannin in 100 Theilen Wasser und, um sie haltbar zu machen, mit Borsäure gesättigt; die Gummilösung hält den Niederschlag suspendirt. Von der Mischung wird soviel in ein Glas mit Wasser gegossen, bis die schwarzen Striche, welche auf einem unter das Glas gelegten Papier gezogen sind, nicht mehr von einander unterschieden werden können. Aus dem dazu verbrauchten Volumen Mischung ergiebt sich der Gehalt des Harns an Eiweiss. Der Apparat, welcher von Cornelius Knudsen in Kopenhagen bezogen werden kann, ist auf p. m. Eiweiss geaicht. — Der Harn muss so sauer sein, dass sich das Eiweiss beim Kochen gut abscheidet. Der Kochsalzgehalt und die Temperatur haben keinen Einfluss auf das Resultat. Man kann die Bestimmung auch bei künstlicher Beleuchtung vornehmen.

Aus 31 Bestimmungen, welche Christensen mit Harnen anstellte, welche im Mittel 6,07 p. m. (0,9—23,2) Eiweiss enthielten, ergab sich ein mittlerer absoluter Fehler von 0,62 g im Liter (— 1,0 bis + 2,8) und ein mittlerer relativer von 12,2 % (0—40,0). Unter 31 Fällen wurde nur 6 mal zu wenig gefunden. Die Abhandlung enthält noch weitere Belege.

---

[1]) E. Riegler, Wiener med. Blätter 48. 1895; Jahresber. f. Thierch. 1895. 261.

[2]) A. Christensen, Virchow's Archiv **115**. 132. 1889.

2. Vogel's optische Methode. Man säuert den Harn schwach mit Essigsäure an, verdünnt gemessene Mengen von 4 oder 6 cc etc. mit Wasser auf 100 cc, erhitzt zum Sieden, kühlt rasch ab und prüft nun, ob der Lichtkegel einer Stearinkerze durch eine 6,5 cm dicke Schichte der Mischung noch sichtbar ist. Man wiederholt den Versuch bei verschiedenen Concentrationen, bis man den Verdünnungsgrad getroffen hat, bei welchem das Flammenbild gerade verschwindet. Der Procentgehalt des Harns an Eiweiss wird gefunden, wenn man mit der Anzahl der verbrauchten Cubikcentimeter Harn in die aus Wägungsbestimmungen von Dragendorff abgeleitete Mittelzahl, 2,3553 dividirt. — Dragendorff führte 35 vergleichende Analysen aus, 3 mal zeigten sich Differenzen von mehr als 0,1, 11 mal von mehr als 0,05, so dass also von 35 Analysen 21 bis auf 0,05 mit der gewichtsanalytischen Methode übereinstimmten. Masing[1]) erhielt in 7 vergleichenden Analysen Differenzen bis zu 20%.

3. Nach demselben Princip bestimmte Esbach[2]) die Menge des im Harn enthaltenen Eiweisses nach der Stärke des mit seinem Reagens erzeugten Niederschlags. Den Hintergrund, nach welchem man zu blicken hat, bildet ein Blatt Papier, auf welches mehrere parallele ungefähr 1 mm breite Striche in kurzem Abstand von einander gezogen sind. Dieser Hintergrund ist durch einen Schirm in eine linke und eine rechte Hälfte getheilt. Vor der linken Hälfte befestigt man ein oder zwei fein matt geschliffene Glastafeln (oder Milchglas); die schwarzen Striche erscheinen dann breiter und die weissen Zwischenräume verschmälert. Es wird weiter vor den Glastafeln ein Cylinder mit gelb gefärbtem Wasser (verdünntem Reagens) aufgestellt. Man misst dann in einen anderen Cylinder (ein langes dickwandiges Reagensglas) ein bestimmtes Volumen (1 cc) Eiweisslösung von bekanntem Gehalt, setzt einige Cubikcentimeter des Esbach'schen Reagens (10 g Pikrinsäure und 20 g Citronensäure im Liter) zu, schüttelt um und verdünnt die Mischung so lang, bis durch sie die Striche ebenso breit erscheinen, wie durch die Glastafeln und die gelbe Flüssigkeit. Man erfährt auf diese Weise, wie viel Eiweiss in dem gemessenen Gesammtvolumen Mischung enthalten ist. Nach dieser Aichung wird der Cylinder weiter getheilt, und zwar so, dass man sogleich den Gehalt des Eiweisses im Liter Harn ablesen kann. Bei der Ausführung der Bestimmung verfährt man wie bei der Aichung. Man verwendet zu einem Versuch 1 cc Harn von mittlerem Eiweissgehalt, von eiweissärmerem mehr, von eiweissreicherem weniger. Nach Esbach ist diese Bestimmung bis auf 0,1—0,3 g Eiweiss im Liter genau. — Esbach hat das Verfahren noch in soweit abgeändert, als er die Harnprobe von vornherein zu stark, aber auf ein festes Volumen verdünnt und dann das Papier mit den Strichen so weit von dem Cylinder entfernt, dass die Striche ebenso breit erscheinen wie links. Die Strecke, um welche der Hintergrund verschoben wurde, bildet das Maass für den Eiweissgehalt.

E. Verfahren von Roberts-Stolnikoff.

Das Verfahren ist gleichzeitig von Roberts und von Stolnikoff beschrieben worden. Hammarsten hat dann mit Brandberg[3]) und anderen seiner Schüler das Eiweiss im Harn sowohl nach dieser Methode als durch Wägung (I. 1. A.) bestimmt und damit die Brauchbarkeit des Verfahrens für klinische Zwecke nachgewiesen.

A. Princip. Harn wird so weit mit Wasser verdünnt, bis eine Probe die Heller'sche Eiweissreaction (§ 43. I. C. 2. a. S. 433)

---

[1]) A. Vogel, Archiv f. klin. Med. **3**. 143. 1867; Ztschr. f. analyt. Ch. **7**. 152. — E. Masing, Arch. f. klin. Med. **4**. 229. 1868.

[2]) G. Esbach, Bullet. de Thér. Janv. 1874; Gaz. méd. de Paris 5. 1874; Dosage de l'alb. Paris, Doin, 1874.

[3]) W. Roberts, Med. chirurg. Transact. **59**. 148. — J. Stolnikoff, Petersburger med. Wochenschr. 12. 1876. — J. Brandberg, Jahresber. f. Thierchemie 1880. 265. — Hammarsten, das. 1883. 217.

erst nach Ablauf einer bestimmten kurzen Zeit schwach, aber deutlich giebt. Nach Brandberg tritt die Reaction in der angegebenen Stärke mit einer Eiweisslösung in 2—3 Minuten ein, wenn die Lösung $3^1/_3$ mg Eiweiss in 100 cc enthält. Ist der Harn soweit verdünnt, dass er die Reaction in derselben Zeit in gleicher Stärke giebt, so enthält er gleichfalls $3^1/_3$ mg in 100 cc, woraus sich berechnen lässt, wieviel Eiweiss im ganzen Volumen des verdünnten Harns enthalten ist. Dieselbe Menge Eiweiss enthält dann auch das zum Verdünnen verwendete Volumen Harn.

Musculus[1]) bedient sich desselben Princips, bestimmt aber die Eiweissmenge nicht nach dem Grade der Verdünnung, sondern nach der Zeit, in welcher der auf ein bestimmtes festes Volumen verdünnte Harn den Eiweissring zeigt. Musculus hat diese Zeiten für einen Eiweissgehalt von 0,01—0,20 p. M. angegeben.

B. Ausführung. Die Proben stellt man so an, dass man auf den Boden eines Reagensglases mit einer Pipette, ohne die Wand zu benetzen, eine gegen 1 cm hohe Schicht concentrirte Salpetersäure bringt und auf diese den verdünnten Harn schichtet. Man saugt dazu den verdünnten Harn in eine spitz ausgezogene Pipette, führt diese bis nahe zur Oberfläche der Salpetersäure und lässt nun den Harn langsam an der Wand des Reagensglases herab auf die Säure fliessen, indem man die Pipette in dem Maasse zurückzieht, als die Flüssigkeit steigt. Man lässt dabei und nachher das Reagensglas im Gestell ruhig stehen. Dann beobachtet man mit der Uhr in der Hand, in welcher Zeit der weisse Streifen gegen einen dunklen Hintergrund schwach, aber deutlich sichtbar wird. Wie bemerkt, ist diejenige Verdünnung die richtige, bei welcher die Reaction in 2—3 Min. eintritt.

Die Genauigkeit des Resultats hängt wesentlich ab von der Art, wie man sich von der Gegenwart des Eiweissringes überzeugt, ob man das Glas, wie man nicht soll, gegen einen hellen, oder gegen einen dunklen Hintergrund beobachtet. Daraus, aus der verschiedenen Dicke der Schicht und aus noch anderen Umständen erklärt sich wohl auch, dass man nach Roberts bei einem Gehalt des verdünnten Harns von 3,4, nach Stolnikoff bei einem solchen von 4 mg in 100 cc die ersten Anzeichen einer Trübung in 35—40 Sec., eine deutliche Trübung nach $1^1/_2$ Min. wahrnehmen soll.

Im Weiteren unterscheidet sich die Ausführung nach der Art, wie die Verdünnung vorgenommen wird.

1. Nach Brandberg.

Die Verdünnung des Harns nimmt man in folgender Weise vor. Man verdünnt den Harn in einem Maasscylinder zunächst auf das 10 fache; in der Regel erscheint dann der Ring zu früh. Dann misst man je 10 cc Wasser in Reagensgläser und lässt in das 1. Glas aus einer Burette 1 cc, in das 2. Glas 2 cc u. s. f. von dem verdünnten Harn zufliessen und schüttelt um. Unter diesen Proben befinden sich

---

[1]) Musculus, Jahresbericht f. Thierch. 1880. 268.

zwei um 1 cc verdünnten Harn unterschiedene, von welchen die eine den Eiweissring zu spät und die andere zu früh zeigt. Man nimmt dann zu den weiteren Proben von dem 10 fach verdünnten Harn Volumina, welche zwischen den beiden so aufgefundenen Grenzwerthen liegen und erfährt auf diese Weise das von dem 10 fach verdünnten Harn für die richtige Reaction erforderliche Volumen auf Zehntel-Cubikcentimeter genau. Wieviel Gramm Eiweiss in 100 cc enthalten sind, lässt sich nach der Formel $\frac{10 + V}{30\ V}$ berechnen, worin V das Volumen des 10 fach verdünnten Harns bedeutet, welches zu 10 cc Wasser hinzugesetzt werden musste. Waren von diesem z. B. 6,5 cc für die richtige Probe erforderlich, so enthielt der Harn $\frac{16,5}{30\ .\ 6,5} = 16,5 : 195 = 0,086$ g Eiweiss in 100 cc.

Es versteht sich von selbst, dass die Volumina möglichst genau, also mit der Burette, abgemessen werden müssen.

Die Formel, mittelst welcher der Eiweissgehalt des Harns berechnet wird, ergiebt sich aus folgender Betrachtung. Wenn für den rechtzeitigen Eintritt der Reaction 10 cc Wasser mit V cc 10 fach verdünntem Harn versetzt worden sind, so enthalten $10 + V$ cc der Mischung V cc verdünnten oder $\frac{V}{10}$ cc und 100 cc der Mischung $\frac{100\ V}{10(10 + V)} = \frac{10 V}{10 + V}$ cc unverdünnten Harn. In diesen 100 cc der Mischung oder in $\frac{10 V}{10 + V}$ cc unverdünntem Harn sind $3^1/_3$ mg Eiweiss enthalten, in 100 cc unverdünntem Harn demnach $\frac{1000}{3} \cdot \frac{10 + V}{10 V}$ mg oder $\frac{10 + V}{30 V}$ g Eiweiss.

Die Resultate fallen für klinische Zwecke hinreichend genau aus. In den 68 Bestimmungen von Hammarsten und seinen Schülern wich das nach diesem Verfahren erhaltene Resultat 48 mal um weniger als 0,05 g von der gewogenen Eiweissmenge ab, und 20 mal um mehr als 0,05 g; in 12 von diesen 20 Fällen erreichte der Fehler die 1. Decimale und 1 mal betrug er 0,3 g. In den 23 im Einzelnen mitgetheilten Beobachtungen Brandberg's weicht die nach Roberts-Stolnikoff bestimmte Eiweissmenge im Mittel um 13,8 % (0,2—40,2) von der gewogenen ab.

Die von Hammarsten beobachteten starken Abweichungen bei nicht sehr grossem Eiweissgehalt beruhen nach ihm nicht sowohl auf einer fehlerhaften Anwendung der Methode, sondern hängen vielmehr von noch nicht genau erforschten Eigenthümlichkeiten eines im Harn bisweilen auftretenden Eiweisskörpers ab.

2. Nach Mittelbach.

Mittelbach[1]) beabsichtigt mit seinem Verfahren nicht, die genauen Werthe für den Eiweissgehalt des Harns zu bestimmen, sondern

[1]) F. Mittelbach, Prager med. Wochenschr. 1898.

nur Grenzwerthe. Dieses abgekürzte Verfahren wird dem Praktiker genügen, die Veränderungen im Eiweissgehalt des Harns bei dem einzelnen Fall zu verfolgen. Als Maassgefässe kommen ausser einem 100 cc fassenden, in ganze cc getheilten Cylinder eine 5 cc fassende, in Zehntel-Cubikcentimeter getheilte Pipette in Verwendung. Eigenartig ist dem Verfahren ferner, dass der verdünnte Harn durch weitere Verdünnung noch zu einer zweiten Probe verwendet werden kann.

Zur Bestimmung braucht man die folgende Tabelle. In dieser giebt die Reihe I an, auf welches Volumen der Harn zu verdünnen ist; bei der Wahl der Harnmenge richtet man sich nach dem Ausfall der qualitativen Probe. Der Harn wird mit der Maasspipette in den Maasscylinder gemessen und der Cylinder bis zu dem angegebenen Volumen aufgefüllt; Zehntelkubikcentimeter Wasser setzt man aus einer gewöhnlichen Pipette zu, wobei man 2 Tropfen = 0,1 cc rechnet. Für die zweite Verdünnung giesst man so viel Flüssigkeit aus dem Cylinder ab, dass der Rest das gewünschte Volumen ausmacht. Tritt die Heller-sche Probe zu zeitig ein, so verdünnt man die Mischung noch einmal, indem man entweder zur nächsten horizontalen Reihe in der verticalen Reihe II oder zur zweitnächsten horizontalen Reihe in der verticalen Reihe III übergeht. Hat man z. B. (nach I No. 4) 3 cc Harn auf 90 cc verdünnt, so kann man von dieser Mischung entweder 60 cc auf 90 cc verdünnen (II No. 5) oder 40 cc auf 90 cc (III No. 6). Reihe IV giebt den Grad der Verdünnung und den Gehalt des Harns an Eiweiss in Grammen für 100 cc an.

No.	I. Harn	I. Volumen	II. Mischung	II. Volumen	III. Mischung	III. Volumen	IV. Verdünnung	IV. Eiweiss
1	1	1	—	—	—	—	0	0,003
2	30	90	—	—	—	—	3	0,01
3	6	90	20	100	—	—	15	0,05
4	3	90	50	100	10	100	30	0,10
5	2	90	60	90	30	90	45	0,15
6	1,4	94,5	60	90	40	90	67,5	0,22
7	1,1	89,5	75	90	45	81,4	81,4	0,27
8	0,9	87,5	75	90	50	72	97,2	0,32
9	0,6	70	75	90	60	86	116,6	0,39
10	0,6	87	64	80	48	72	145,0	0,49
11	0,5	91,1	64	80	50	62,5	182,2	0,60
12	0,4	87,5	75	90	60	90	218,7	0,73
13	0,4	97,2	72	80	60	80	243,0	0,81
14	0,3	81	72	80	60	74,1	270,0	0,90
15	0,3	90	72	80	60	74,1	300,0	1,00

Tritt in einer der Proben der Niederschlag rechtzeitig ein, so enthält der Harn diejenige Menge Eiweiss, welche in der zu der Verdünnung gehörigen horizontalen Reihe angegeben ist. Erscheint der Niederschlag in dem einen Fall zu früh, in dem anderen Fall zu spät, so liegt die Eiweissmenge zwischen den beiden in IV angegebenen Grössen als Grenzwerthen; nach dem gewählten Beispiel würde der Harn also zwischen 0,10 und 0,15 oder 0,22 g Eiweiss in 100 cc enthalten.

Wenn die Reaction bei der ersten Probe zu spät eintritt, so hat man eine concentrirtere Harnverdünnung herzustellen, tritt sie in beiden Proben zu zeitig ein, so muss man mit einer stärkeren Verdünnung von vorn anfangen. Mit der Tabelle kommt man für die gewöhnlichen Fälle aus. Enthält der Harn aber ausnahmsweise mehr als 1 % Eiweiss, so hat man ihn von vornherein auf das Doppelte zu verdünnen und die Untersuchung in der angegebenen Weise auszuführen, dann aber auch den der Tabelle entnommenen Werth zu verdoppeln. Bei wiederholter Untersuchung des Harns eines Kranken vereinfacht und kürzt sich das Verfahren dadurch, dass aus den früheren Untersuchungen bereits bekannt ist, wieviel Eiweiss man ungefähr zu erwarten hat.

F. Verfahren von Esbach.

A. Princip. Aus der Höhe eines in bestimmter Weise erhaltenen Eiweissniederschlags wird nach einer empirischen Skala der Gehalt des Harns an Eiweiss geschätzt.

Seit die Kochprobe (§ 43. I. C. 1. S. 432) zum Nachweis des Eiweisses im Gebrauch ist, hat man gehofft, aus der Höhe des dabei entstehenden Niederschlags die Eiweissmenge wenigstens annähernd schätzen zu können; aus J. Vogel's Untersuchung hat sich aber ergeben, dass dabei Fehler bis zu 50 % unterlaufen können; in 9 solchen Versuchen von Veale betrug der Fehler im Mittel 13,4 % (6,3—21,0) des Eiweisses. Die Ursache dieses Fehlers glaubte man darin suchen zu müssen, dass der Niederschlag nicht immer gleich dicht werde. Esbach's[1]) Bestreben ist nun dahin gerichtet gewesen, durch Anwendung eines besonderen Verfahrens den Niederschlag gleichmässiger zu erhalten.

B. Ausführung. Das Esbach'sche Reagens, mit welchem das Eiweiss gefällt wird, ist eine Lösung von 10 g Pikrinsäure und 20 g Citronensäure im Liter. Die Fällung wird vorgenommen in einem graduirten Rohr, dem Albuminimeter. Dasselbe hat die Gestalt eines Reagensglases, ist aber stärker in der Wand, hat eine Länge von 15 cm und eine lichte Weite von 15—16 mm. Etwa 6 cm über dem runden Boden befindet sich ein mit U, 4 cm über U ein mit R bezeichneter Strich; ferner sind vom Boden aus bis zu einer Höhe von ungefähr 4 cm 7 weitere, mit 1—7 numerirte Striche in nach oben immer ge-

1) H. Veale, Brit. med. Journ. 1884. I. 898. — G. Esbach, Bulletin de Thérap., Janv. 1874; Gazette méd. de Paris 5. 1874. 61; Dosage de l'alb. Paris, Doin, 1874; Dosage de l'albumine. 7. édit., Paris, Brewer frères, 1886.

ringer werdenden Abständen aufgetragen. Bis zur Marke U wird der Harn in den Cylinder gefüllt, so, dass der Strich den Scheitel des Meniscus tangirt, bis zur Marke R ebenso das Reagens. Dann schliesst man das Glas mit dem Daumen, kehrt es 10—12 mal um, ohne zu schütteln, verstopft es mit einem Kautschukpfropfen und lässt es aufrecht in einem Gestell stehen. Nach 23—24 Stunden liest man die Höhe des Niederschlags an den mit den Zahlen versehenen Strichen ab; sie geben an, wieviel Gramme Eiweiss im Liter Harn enthalten sind. Diese Striche liegen nach oben immer näher aneinander, weil die unteren Eiweissschichten durch die auf ihnen lastenden zusammengedrückt werden und nun eine geringere Höhe einnehmen, als wenn sie sich allein abgesetzt haben. Die Cylinder müssen selbstverständlich rein und trocken gebraucht werden.

Bei der Ausführung des Verfahrens sind noch einige von Esbach aufgestellte Regeln zu berücksichtigen. Der Harn muss sauer reagiren: ist dies nicht der Fall, so säuert man ihn mit Essigsäure deutlich an. Seine Dichte soll ferner die von 1,006—1,008 nicht überschreiten; ist er zu concentrirt, so verdünnt man ihn entsprechend. Die Resultate fallen endlich auch genauer aus, wenn der Harn nicht über 4 g Eiweiss im Liter enthält; ergiebt ein Versuch mehr, oder deutet eine andere Probe auf einen stärkeren Gehalt, so wird der Harn gleichfalls entsprechend verdünnt; selbstverständlich kann man mit einem anscheinend zu eiweissreichen Harn zwei oder mehr Proben gleichzeitig ansetzen, eine mit unverdünntem und die andere mit verdünntem Harn. Nach Schulz, sowie nach Christensen[1]) ist die Temperatur von grossem Einfluss auf die Höhe des Niederschlags; sie ist bei niederer Temperatur erheblich grösser, bei höherer Temperatur erheblich kleiner als bei Zimmertemperatur, bei welcher die Probe angestellt werden soll.

Nach Johnson[2]) giebt eine Lösung blos von Pikrinsäure, welche 11,43 g im Liter enthält, beiläufig dieselben Resultate, wie die zugleich Citronensäure enthaltende Lösung von Esbach; bei Verwendung einer Lösung von Pikrinsäure allein mit 10 g im Liter, wie bei Esbach, ist der Niederschlag zu locker und die Schicht zu hoch, mit gesättigter Pikrinsäurelösung der Niederschlag zu dicht.

Verdünnt man einen Harn von der Dichte d auf das n fache, so hat er dann die Dichte $1 + \frac{d-1}{n}$; ein Harn, welcher z. B. die Dichte von 1,021 besass, zeigt nach dem Verdünnen auf das 3 fache die Dichte 1,007.

Wie aus den aufgestellten Versuchsbedingungen hervorgeht, kommt für den richtigen Ausfall des Resultats sehr viel auf die Dichte der Flüssigkeit an, in welcher sich der Eiweissniederschlag zu Boden senkt. Wegen dieser Bedeutung der Dichte des Mediums ist das Verfahren daher auch nicht zur Bestimmung des Eiweisses in anderen Flüssigkeiten, z. B. in Transsudaten, verwendbar.

---

1) H. Schulz, Deutsche med. Wochenschr. 32. 1886. 558. — A. Christensen, Virchow's Archiv 115. 131. 1889.

2) G. Johnson, Lancet 1886. II. 63.

Noch bedeutender erweist sich aber der Einfluss der Temperatur. Dieser zeigte sich in den Versuchen von Schulz in der Weise, dass der Niederschlag, welcher bei 12—15° C. ausgefallen war, eine 4,5—4,7 p. M. Eiweiss entsprechende Höhe einnahm, während der bei 2—4° entstandene Niederschlag 7,6—7,8, der bei 0° ausgefallene 7,0 p. M. Eiweiss angezeigt hätte. Christensen beobachtete, dass eine Probe, welche nach der Anzeige des Albuminimeters bei 15° C. 9 p. M. enthalten hätte, bei 35° in 1/2 St. auf 3, und in weniger als 2 St. auf 1,5 p. M. herabging. Eine bei 15° hingestellte Probe gab 3,5 p. M. Eiweiss an, während zwei andere bei 8,5—10° aufbewahrte Proben 5,5 und 6,6 p. M. Eiweiss zeigten. Der Einfluss der Temperatur ist nicht sowohl aus einer Aenderung des spec. Gewichts, als vielmehr in einer Aenderung der Viscosität (inneren Reibung) der Flüssigkeit zu suchen. Eine warme Flüssigkeit ist flüssiger als eine kalte und wird daher auch einem fallenden Körper leichter ausweichen und Platz machen, als eine kalte.

Nach Esbach ist das Verfahren für die eiweissarmen Harne bei febriler Albuminurie weniger geeignet, als für die eiweissreicheren bei Nephritis und bei Herzkrankheiten. — Mit Harn, der nach dem Gebrauch von Chinin, Thallin oder Antipyrin entleert war, erhielt Ritter keine günstigen Resultate.

Johnson, Schulz, Sokolow sowie Geissler bezeichnen das Verfahren als brauchbar für die Zwecke des praktischen Arztes und Dillner, Veale, Ritter, Czapek sprechen sich auf Grund ihrer Untersuchungen gleichfalls günstig für das Verfahren aus. Christensen dagegen, Grutterink sowie Rössler[1]) verwerfen es.

In Dillner's 35 Bestimmungen betrug der mittlere Fehler bei einem Eiweissgehalt des Harns von 0,05—2,13% 0,054 g, der kleinste 0,002 g, der grösste, der aber nur 4 mal vorkam, 0,1 g. — Veale hat 10 Harne mit 4,06 p. M. (3,0—5,4) Eiweiss untersucht. Die Abweichung von den Wägungsbestimmungen waren positiv und negativ, schwankten zwischen zwischen — 0,8 und + 0,5 g im Liter und betrugen im Mittel 6,6% (0—21,0) des gewogenen Eiweisses. — Ritter sowie Czapek erhielten nach Esbach stets weniger Eiweiss als durch Wägen und zwar nahm der Fehler im Allgemeinen mit der Menge des Eiweisses zu. In den 15 Fällen von Ritter enthielt der Harn im Mittel 0,127% (0,022—0,34) Eiweiss. Die Abweichung betrug im Mittel 0,017 g (0,005—0,038) oder 16,2% (5,9—28,6) des gewogenen Eiweisses. — Die 23 Harne, welche Czapek untersuchte, enthielten im Mittel 0,21% (0,05—0,52) Eiweiss. Der Fehler betrug im Mittel 0,045 g (0—0,16) Eiweiss oder 18% (0—50) des gewogenen Eiweisses. — Christensen und Mygge haben denselben Harn, in welchem Christensen das Eiweiss dem Gewicht nach bestimmte, jeder für sich an einem anderen Ort nach Esbach untersucht, und zwar Christensen in 33, Mygge in 32 Fällen. Der Harn stammte von 8 verschiedenen Kranken und enthielt 0,4—8,9 p. M. im Mittel 3,57 (Christensen) und 3,95 (Mygge) Eiweiss. Bei Mygge betrug der Fehler im Mittel 0,95 g (— 3,5 bis + 1,3) oder 22,6% (— 56,7 bis + 50,0), bei Christensen 0,86 g (—1,7 bis + 3,4) oder 26,8% (— 21,5 bis + 75%) des gewogenen Eiweisses. Diese Parallelbestimmungen nach Esbach hatten also ein sehr verschiedenes Resultat; die Unsicherheit des Ergebnisses geht noch deutlicher aus dem Umstand hervor, dass in 13 Fällen der Fehler bei Christensen positiv war, wo er sich bei Mygge als negativ ergeben hatte. Diese Verschiedenheiten haben ihren Grund hauptsächlich in der Ungleichheit der Temperatur, bei

1) Sokolow, das. 1887. 223. — Th. Geissler, Berliner klin. Wochenschrift 51. 1889. — Hj. Dillner, Jahresber. f. Thierch. 1886. 226. — H. Veale, a. a. O. — S. Ritter, Beiträge zur quantitativen Eiweissbest. Diss. Breslau 1887. 37. — F. Czapek, Prager med. Wochenschr. 15. 1888. 128. — Alide Grutterink, Nederl. Tijdschr. voor Pharm. **6.** 75; Chem. Centralbl. 1894. **1.** 846. — O. Rössler, Apotheker-Ztg. **14.** 293; Chem. Centralbl. 1894. **1.** 976.

welcher die Versuche ausgeführt wurden. Der Umstand, dass von Ritter und von Czapek nach Esbach immer weniger Eiweiss gefunden wurde, ist vielleicht gleichfalls darin zu suchen, dass bei diesen Versuchen die Temperatur höher war, als sie sein sollte (bei Czapek 20°); oder darin, dass die Albuminimeter für Eiweiss geaicht waren, das bei niederer Temperatur getrocknet wurde, als in den Bestimmungen von Ritter und von Czapek.

Für eine auch nur einigermaassen befriedigende Bestimmung der absoluten Eiweissmenge ist das Esbach'sche Verfahren also durchaus nicht brauchbar. Es lässt nur grobe Schätzungen zu, die kaum genauer ausfallen, als die Schätzung der Eiweissmenge nach der Höhe des bei der Kochprobe entstehenden Niederschlags. Wenn jedoch die Bestimmungen nach Esbach immer bei derselben Temperatur und unter Einhaltung der übrigen Regeln vorgenommen werden, so wird man erfahren können, ob der Eiweissgehalt eines Harns zu- oder abgenommen hat; vernachlässigt man die Temperatur, so kann es allerdings geschehen, dass man die Eiweissmenge gegen früher vermehrt findet, wo sie in Wirklichkeit vermindert ist und umgekehrt.

G. Andere indirecte Methoden.

1. Die polarimetrische Bestimmung führt nur zu ungenauen Resultaten, weil der Harn bei Albuminurie in der Regel zwei verschiedene Eiweisskörper mit verschiedener specifischer Drehung, nämlich $[\alpha]_D = -63,6$ für das Albumin und $[\alpha]_D = -47,8$ für das Globulin nebeneinander enthält und weil der Harn Eigendrehung besitzt. Die Grenzen der Fehler, welche durch die Gegenwart dieser zwei Eiweisssubstanzen in einem optisch inactiven Lösungsmittel bedingt sind, lassen sich von vornherein feststellen. Bezieht man die beobachtete Drehung auf Albumin, so ist die Bestimmung selbstverständlich richtig, wenn die Lösung blos Albumin enthält; wäre dagegen blos Globulin zugegen, so fände man für 1 Albumin nur $\frac{47,8}{63,6} = 0,7516$ Eiweiss, also 24,84% zu wenig. Der Fehler in der Albuminbestimmung bewegt sich also zwischen 0 und 24,84%. Es liesse sich nun die Berechnung mit dem Mittel der beiden specifischen Drehungen, $-55,7$, vornehmen; dann würde, wenn die Lösung nur Albumin enthielte, 14,18% zuviel, und wenn sie blos Globulin enthielte, 14,18% Eiweiss zu wenig gefunden; der Fehler liegt also zwischen $-14,18$ und $+14,18$%.

Der eiweissfreie Harn dreht nun gleichfalls links; betrüge die Drehung $\alpha_D = -0,1$ und berechnete man das Eiweiss mit der Drehungsconstante für das Albumin, so fände man 0,16 g und bei der Berechnung mit der mittleren Drehung, 0,18 g Eiweiss in 100 cc zuviel.

Man könnte daran denken, die beiden Eiweisskörper unter Berücksichtigung der Eigendrehung des Harns gesondert polarimetrisch zu bestimmen; allein auch so gelangt man nicht zum Ziele, weil sich nach meinen Erfahrungen die Eigendrehung des Harns bei der Abscheidung des Eiweisses ändert und zwar bei den verschiedenen Fällungsweisen in verschiedenem Grade.

2. Die maassanalytische Methode von Bödeker beruht darauf, dass Albumin in essigsaurer Lösung durch Ferrocyankalium vollständig gefällt wird. Das Verfahren giebt nach Neubauer nur annähernde Resultate. Auch Thomas[1]) hat gefunden, dass wenn der Eiweissgehalt nicht 1,5—2% beträgt, die

[1]) Bödeker, Ann. d. Chem. u. Pharm. **111**. 195. — L. Thomas, Schmidt's Jahrb. **120**. 171.

Resultate gänzlich unbrauchbar sind. In allen Fällen, wo der Eiweissgehalt nur gering war, fand Thomas nach Bödekers Methode oft sehr viel mehr Eiweiss als durch Wägung.

3. Tanret verwendet zur Bestimmung des Eiweisses eine Lösung von 3,32 g Jodkalium und 1,35 g Quecksilberchlorid in 100 cc Wasser (§ 45. I. C. 3. r. 3. S. 439). Es werden 10 cc Harn mit 2 cc Essigsäure vermischt und das Reagens der Flüssigkeit tropfenweise zugesetzt. Sobald der Niederschlag bleibend wird, prüft man von Zeit zu Zeit, ob ein Tropfen derselben auf einer Porzellanplatte mit einem Tropfen 1 proc. Quecksilberchloridlösung einen gelben Niederschlag giebt; geschieht dies, so ist die Fällung vollendet. Von der verbrauchten Tropfenzahl zieht man 3 ab; so viel Tropfen übrig bleiben, so viel mal 0,5 g Eiweiss sei im Liter enthalten. Das Reagens fällt ausser Eiweiss auch andere Harnbestandtheile. Stephen[1]) hat das Verfahren aufs Neue vorgeschlagen.

Venturoli[2]) verwendet dasselbe Princip in anderer Form. Er versetzt 5 cc Harn mit 6 cc einer 0,5 proc. Jodkaliumlösung als Indicator und einem Tropfen Essigsäure und titrirt dann mit einer 1 proc. Quecksilberchloridlösung bis zum Auftreten eines gelbrothen Niederschlags von Quecksilberjodid. Von den bis dahin verbrauchten cc Quecksilberlösung wird 1 cc abgezogen; der Rest giebt, mit dem empirischen Factor 0,0245 multiplicirt, die Menge des Eiweiss in g.

4. Klug[3]) bestimmt den Gehalt einer Eiweisslösung oder Harn durch spectrophotometrische Messung der Biuretfärbung. Es sollen 4 cc der Lösung mit 2 cc concentrirter Natronlauge und 4 Tropfen 10 proc. Kupfersulphatlösung versetzt und die Mischung filtrirt werden; die Spectrophotometrie wird in der Spectralgegend D 75 E — E vorgenommen. Klug hat die Exstinctionscoefficienten für verschiedene Eiweissarten angegeben.

II. Gesonderte Bestimmung des Globulins und Albumins.

1. Nach Hammarsten[4]).

A. Princip. Sättigt man Harn bei amphoterer oder besser schwach alkalischer Reaction mit Magnesiumsulphat, so fällt alles Globulin aus (§ 43. II. C. c. S. 448). Der Niederschlag wird mit gesättigter Magnesiumsulphatlösung albuminfrei gewaschen, zur Coagulation des Globulins auf 110° erhitzt, vom Magnesiumsulphat durch Waschen befreit, getrocknet, verascht und das Gewicht der Asche vom Trockengewicht abgezogen. Bestimmt man in einer Probe zugleich das Gesammteiweiss, so lässt sich auch der Gehalt des Harns an Albumin berechnen. Von Hammarsten ausgeführte Controlbestimmungen ergaben sehr befriedigende Resultate, aus Harn wird jedoch nach Mörner[5]) beim Sättigen desselben mit Magnesiumsulphat ein Theil des Albumins als mucinähnliche Substanz gefällt.

---

[1]) Ch. Tanret, Bull. de thérap. 7. 1877; Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1877. 493. — N. Stephen, Lancet 1882. II. No. 15; Ztschr. f. analyt. Ch. **23**. 116.

[2]) F. Venturoli, L'Orosi **13**. 255; Chem. Centralbl. 1890. **2**. 525.

[3]) F. Klug, Centralbl. f. Physiologie **8**. 227. 1893.

[4]) O. Hammarsten, Pflüger's Archiv **17**. 431 u. 447; **22**. 437. u. briefliche Mittheilung.

[5]) K. A. H. Mörner, Skandin. Archiv **6**. 411. 1895.

Wurde reines Serumalbumin, welches durch Sättigen seiner Lösung mit Magnesiumsulphat bei 30° nicht gefällt wurde, neutralem oder schwach alkalischem Harn zugesetzt, so wurde es durch das Bittersalz niedergeschlagen, bei einem Gehalt des Harns von 0,06% Albumin vollständig, nach Zusatz von 0.17% zum grössten Theil. Aus einem bei Phosphorvergiftung entleerten Harn konnten so selbst 0,55% Eiweiss bis auf eine geringe Menge gefällt werden. Vergl. § 43. IV. B. 5. S. 455.

B. Ausführung. Der Harn darf nicht stark sauer reagiren, weil in diesem Fall nach Ott (§ 43. D. S. 419) durch das Magnesiumsulphat, noch leichter in der Wärme als in der Kälte, auch Albumin gefällt und die Bestimmung falsch wird. Man versetzt daher den Harn bis zum Verschwinden der sauren Reaction mit Natron- oder Kalilauge, lässt einige Zeit stehen und filtrirt einen entstandenen Phosphatniederschlag ab. Ist der Harn reich an Uraten, so kühlt man ihn nach Hammarsten vorher einige Stunden auf + 2 oder + 1° ab und filtrirt von den ausgefallenen Uraten ab. Von dem so vorbereiteten Harn misst man je nach dem Eiweissgehalt 25—100 cc in ein Becherglas ab, versetzt ihn auf 100 cc mit 120 g fein gepulvertem und gesiebten krystallisirten Magnesiumsulphat und lässt ihn unter häufigem Umrühren stehen, bis sich das am Boden liegende Salz ganz oder bis auf einen kleinen gleichbleibenden Rest gelöst hat. In der Kälte sind dazu mehr als 24 Stunden erforderlich, in der Wärme, bei 40° (in einem Wasserbad) geht die Lösung des Salzes schneller von Statten; eine warm gesättigte Lösung muss man vor dem Filtriren erkalten lassen, damit überschüssig gelöstes Salz auskrystallisirt. Beim Umrühren ist die Bildung von Schaum möglichst zu vermeiden.

Nach erfolgter Sättigung des Harns mit dem Salz bringt man die Flüssigkeit mit den Globulinflocken auf ein aschefreies, bei 110° (in einem leeren Glaswolltrichter, Fig. 44. S. 697) getrocknetes, gewogenes Filter, das vorher mit gesättigter Bittersalzlösung befeuchtet worden ist, rührt dann das rückständige Salz wiederholt mit gesättigter Bittersalzlösung auf, und bringt auch diese Lösung auf das Filter, bis die Magnesiumsulphatlösung nach dem Verrühren mit dem Salzbodensatz klar bleibt. Das Filter darf dabei nicht bis zum Rande gefüllt werden. Man wäscht darauf das Filter so lange mit gesättigter Bittersalzlösung, bis das Filtrat weder bei Erhitzen für sich, noch unter Zusatz von Essigsäure getrübt wird, und stellt den Trichter sammt dem Filter mehrere Stunden in einen auf 110° angeheizten Trockenkasten, wäscht das Filter erst mit heissem Wasser schwefelsäurefrei, dann noch mit Alkohol und Aether, trocknet es bei 110° bis zur Gewichtsconstanz und wägt es nach dem Erkalten im Exsiccator. Es ist dann noch die dem Niederschlag beigemengte Mineralsubstanz zu bestimmen; zu diesem Zwecke brennt man Filter sammt Niederschlag in einem gewogenen Platintiegel weiss und wägt nach dem Erkalten im Exsiccator. — Bei dem Verfahren tritt leicht die unangenehme Störung ein, dass sich das Filter beim Auswaschen mit der gesättigten Bittersalzlösung durch auskrystallisirendes Salz völlig verstopft, wodurch die Analyse verloren geht.

Kamenski[1]) löst den ausgewaschenen Niederschlag in Wasser und coagulirt das Globulin durch Kochen.

2. Nach Pohl.

A. Princip. Pohl[2]) fällt das Globulin dadurch, dass er den Harn zur Hälfte mit Ammonsulphat sättigt (§ 43. II. C. c. S. 448), wobei Albumin nach Mörner zwar auch, aber nicht so vollständig wie bei Sättigen des Harns mit Magnesiumsulphat, als mucinähnliche Substanz gefällt wird. Der Niederschlag wird wieder mit halbgesättigter

1) Kamenski, Diss. Petersburg 1888; Chem. Centralbl. 1888. 931.
2) J. Pohl, Archiv f. exper. Pathol. 20. 426. 1886.

Ammonsulphatlösung albuminfrei gewaschen, im Uebrigen aber nach II. 1. verfahren. Die Resultate zeigen eine befriedigende Uebereinstimmung mit den nach dem Hammarsten'schen Verfahren gewonnenen. Ein Verstopfen des Filters durch auskrystallisirendes Salz, was bei dem Hammarsten'schen Verfahren leicht vorkommt, tritt hier nicht ein.

B. Ausführung. Es wird Harn mit Ammoniak bis zum Verschwinden der sauren Reaction versetzt und wenn nöthig von einem entstandenen Phosphatniederschlag abfiltrirt. Von dem Filtrat versetzt man 50—100 cc mit dem gleichen Volumen einer gesättigten neutralen Ammonsulphatlösung, bringt den Niederschlag nach einstündigem Stehen auf ein (im leeren Glaswolltrichter, Fig. 44. S. 697) gewogenes, bei 110^0 getrocknetes und nach dem Erkalten gewogenes Filter aus aschenfreiem Papier und wäscht mit halbgesättigter (auf das doppelte Volumen verdünnter gesättigter) Ammonsulphatlösung, bis im Filtrat mit Essigsäure und Ferrocyankalium kein Eiweiss mehr nachweisbar ist. Von da ab ist das Verfahren dasselbe wie bei Hammarsten (II. 1. B).

3. Mittelst der Heller'schen Eiweissprobe.

Lecorché u. Talamon[1]) wenden zur Bestimmung des Globulins im Harn dasselbe Verfahren an, dessen sich Roberts, Stolnikoff sowie Brandberg zur Bestimmung des Gesammteiweisses bedient haben (dieser § I. 3. E. S. 849). Sie sättigen den Harn mit Magnesiumsulphat und verwenden das Filtrat zur Bestimmung des in Lösung gebliebenen Albumins. Die Menge desselben wird abgezogen von der Menge des nach Brandberg bestimmten Gesammteiweisses. Es war die Frage, ob die starke Erhöhung des Salzgehaltes die Richtigkeit des Resultats nicht beeinträchtigt. v. Ritter hat in meinem Laboratorium in 10fach verdünntem Harn ohne und mit Zusatz von soviel Ammonsulphat, als der unverdünnte Harn zur Fällung des Globulins gebraucht hätte, das Eiweiss nach Brandberg bestimmt und dieselben Werthe erhalten.

Ob es zulässig ist, die Menge des Albumins nach derselben Formel zu berechnen wie die des Gesammteiweisses, ist fraglich, aber nicht unwahrscheinlich.

4. Bestimmung durch das Polarimeter.

Man könnte so verfahren, dass man die Drehung des Harns bestimmt, dann das Globulin nach II. 1 oder 2 abscheidet und die Drehung des Filtrats ermittelt, und endlich aus dem Filtrat oder aus einer anderen Harnprobe das gesammte Eiweiss abscheidet und in dem eiweissfreien Harn die Eigendrehung bestimmt. Es wäre dann unter Berücksichtigung der Volumensänderungen mit Hilfe der Drehungsconstanten des Albumins und des Globulins die Mengen der beiden Eiweisssubstanzen zu berechnen. Das Verfahren scheitert aber daran, dass sich

[1]) E. Lecorché u. Ch. Talamon, Traité de l'albuminurie, Paris 1888. 67.

die Eigendrehung des Harns bei den verschiedenen Fällungsweisen der Eiweisskörper in verschiedenem Grade ändert, ein Umstand, der bei der Kleinheit der im Eiweissharn zur Beobachtung kommenden Drehungen die Richtigkeit der Resultate in erheblicher Weise beeinflusst.

III. Bestimmung des Harnpeptons.

1. Nach Maixner.

Maixner bediente sich dazu der colorimetrischen Methode von Hofmeister[1]). Das Harnpepton wurde nach § 43. VII. C. 3. a. S. 481. mit Salzsäure und Phosphorwolframsäure aus dem Harn abgeschieden und mit Baryumhydrat oder kohlensaurem Natron wieder in Freiheit gesetzt. Mit der Lösung wurde eine Biuretprobe angestellt und mit der Färbung derselben die einer anderen Biuretprobe verglichen, zu welcher eine bestimmte Menge Harnpepton verwendet worden war.

Von der auf ein bestimmtes Volumen gebrachten Lösung des Harnpeptons werden 20 cc in einen Glastrog mit planparallelen Wänden gemessen, mit schwacher Natronlauge und soviel Kupfersalz versetzt (Acetat, wenn die Lösung Baryt enthält), dass eine möglichst deutliche Biuretfärbung entsteht; die hinzugefügten Reagenslösungen werden gemessen und den 20 cc Lösung hinzugezählt. Dann ertheilt man einer Peptonlösung von bekanntem Gehalt (ungefähr 1 proc.) in gleicher Weise eine starke Biuretfärbung. Aus dem Gehalt und dem verwendeten Volumen der reinen Peptonlösung und dem Volumen der Zusätze wird der Gehalt der gefärbten Peptonlösung berechnet. Diese Lösung dient zur Herstellung der Vergleichsprobe; da die Harnpeptonlösung gelb ist, das Wasser, welches zur Vergleichsprobe verwendet wird, aber nicht, so würden die Biuretproben der beiden Flüssigkeiten einen ungleichen Farbenton besitzen. Man färbt daher das Wasser der Vergleichsprobe durch einige Tropfen Harn ebenso gelb, wie die Harnpeptonlösung; dieser Harn wird vorher zur Fällung der Phosphorsäure mit kohlensaurem Natron versetzt und filtrirt. Von der gefärbten Peptonlösung mischt man dann in einem zweiten gleichweiten Glastrog abgemessene Mengen mit 20 cc des gefärbten Wassers, bis die Biuretfärbung in dieser Probe ebenso stark ist, wie in der mit dem Harnpepton. Es enthalten dann gleiche Volumina der beiden Proben gleich viel Pepton, und da die Gesammtvolumina der Flüssigkeit in beiden Proben sowie die absolute Menge des Peptons in der Vergleichsprobe bekannt sind, so lässt sich der Gehalt der Harnpeptonlösung an Pepton und somit auch der Gehalt des Harns an Pepton berechnen. Den Gehalt der reinen Peptonlösung an Pepton hat Maixner durch Polarisation nach $[\alpha]_D = -63{,}5^0$ bestimmt. Bei Versuchen mit wässrigen Peptonlösungen fand Maixner immer etwas weniger Pepton wieder, als er zu den Versuchen genommen hatte. Das Verfahren gestattete wegen dieses Verlustes und auch deshalb nur eine ungefähre Bestimmung des Peptons, weil das Harnpepton nicht die von Maixner der Bestimmung zu Grunde gelegte specifische Drehung zu haben braucht.

2. Nach Dutto[2]).

Das Pepton wird durch einen Ueberschuss von Jodwismuthkalium gefällt, der Niederschlag nach 12—24 Stunden mit Wasser gewaschen,

---

[1]) E. Maixner, Ztschr. f. klin. Med. **11.** 344. 1886. — F. Hofmeister, Ztschr. f. physiol. Ch. **5.** 135; **6.** 57.

[2]) Dutto, Deutsche Med. Ztg.; Chem. Centralbl. 1894. **2.** 1022.

welches mit Schwefelsäure schwach angesäuert ist und im Vacuum getrocknet. Im Niederschlag bestimmt man die Menge des Wismuths als Oxyd oder besser als Metall. 1 g metallisches Wismuth entspricht 6,8—7,1 g Pepton.

§ 82. Bestimmung der Farbstoffe.

I. Des Urobilins.

1. Spectrophotometrisch.

A. Nach Fr. Müller[1]).

A. Princip. Nachdem aus dem Harn durch alkalische Barytlösung etwa vorhandener Gallenfarbstoff und andere Farbstoffe (Hämatoporphyrin) gefällt worden sind, wird das Filtrat nach Beseitigung des überschüssigen Baryts bei deutlich saurer Reaction mit Ammonsulphat gesättigt, der Niederschlag, in welchem das Urobilin enthalten ist, unter Zusatz von Schwefelsäure mit Aether-Alkohol ausgekocht und in der Lösung der Gehalt an Farbstoff spectrophotometrisch ermittelt. Es wird dasjenige Urobilin gefunden, welches als solches im Harn enthalten ist und das, welches sich im Verlauf der Untersuchung bildet.

B. Erfordernisse.

1. Eine Mischung von 1 Vol. gesättigter Chlorbaryumlösung mit 2 Vol. gesättigtem Baryumhydrat.
2. Eine Mischung von 1 Vol. Aether mit 2 Vol. Alkohol von 96 %.

C. Ausführung. Nach den Angaben von Fr. Müller und nach meiner eigenen Erfahrung verfährt man folgendermaassen. Von Harn mittlerer Concentration werden 100 cc mit 30 cc der Barytmischung versetzt; ist der Harn nur wenig gefärbt, so nimmt man von ihm mehr in Arbeit; sehr dunkler Harn wird vor der Fällung auf das Doppelte verdünnt. Nach dem Zusatz der Barytmischung soll die Flüssigkeit alkalisch reagiren. Für die weitere Verarbeitung ist ein doppelter Weg möglich; man filtrirt und wäscht den Barytniederschlag mit heissem Wasser aus, wodurch dem Niederschlag das Urobilin bis auf einen kleinen Rest entzogen wird, oder man benützt vom Filtrat nur die Hälfte des Gesammtvolumens (bei Verwendung von 100 cc Harn also 65 cc), wobei freilich, wegen des grossen Volumens des Barytniederschlages das Resultat nicht sehr genau ausfallen kann. Aus dem Filtrat entfernt man den überschüssigen Baryt mit concentrirter Natriumsulphatlösung, säuert mit Schwefelsäure schwach an und sättigt das Filtrat mit Ammonsulphat vollständig. Bei unvollständiger Sättigung fällt nicht alles Urobilin aus. Man bringt den gefällten Farbstoff ohne

---

[1]) Fr. Müller, bei Gerhardt, Ueber Hydrobilirubin. Dissert. Berlin 1889, und briefliche Mittheilung.

viel Salz auf ein Faltenfilter, spült den Rest des dem rückständigen Salz noch beigemengten Urobilins mit dem Filtrat auch auf das Filter und übergiesst das Filter zuletzt mit gesättigter Ammonsulphatlösung. Durch Schwenken des Gefässes mit dem rückständigen Salz lässt sich an der Wand haftender Farbstoff leicht ablösen. Man lässt das Filter entweder im Trichter oder auf Fliesspapier oberflächlich trocken werden und kocht es dann in einer Kochflasche mit aufgesetztem Condensations- oder Kühlrohr nach Zusatz von verdünnter Schwefelsäure mit Aether-alkohol aus.

Das Volumen der ätherisch-alkoholischen Lösung wird gemessen, an ihr spectrophotometrisch zwischen dem mittleren und rechten Drittel des Urobilinstreifens die übrig bleibende Lichtstärke J′ bestimmt und aus dieser, wenn sie zur Verfügung steht, mit Hilfe der Vierordt'schen Tafel, der Exstinctionscoefficient ε berechnet nach $-\log J' = \varepsilon$. Der Exstinctionscoefficient ist direct proportional der Concentration der Lösung. Unter Berücksichtigung der Volumens der ätherisch-alkoholischen Lösung und des in Arbeit genommenen Harnvolumens lässt sich ε auf den Harn übertragen. Aus ε findet man den Gehalt des Harns an Urobilin c nach $c = \varepsilon A$, wo A das Absorptionsverhältniss bedeutet. (Vgl. § 56. D. S. 690.) Das Absorptionsverhältniss des Urobilins ist nicht bekannt; Fr. Müller hat statt desselben das des Hydrobilirubins genommen, welches nach Vierordt für E 63 F—E 80 F 0,0551 beträgt, wenn man als Concentration nicht die Anzahl der im cc enthaltenen g, sondern mg annimmt.

Am Genauesten fallen die Bestimmungen nach Fr. Müller aus, wenn J′ zwischen 15 und 30 beträgt; für stärkere Concentrationen ist das Gesichtsfeld zu dunkel, für geringere (etwa J′ = 50) werden die Fehler zu gross. Der grösste Fehler der Ablesung betrug 8,7 $^0/_0$; bei vielen Ablesungen (10 und mehr) glichen sich die Fehler nahezu ganz aus. Es lassen sich noch sehr geringe Mengen (0,0048 und 0,0053 mg im cc) mit ziemlicher Sicherheit (auf 8,3 $^0/_0$) bestimmen.

Damit man blos das präformirte Urobilin bestimme, empfiehlt Fr. Müller, möglichst frischen Harn zu verwenden oder ihn bei nur schwach saurer oder alkalischer Reaction aufzubewahren.

Urobilinogen wird durch Baryt nicht gefällt. Da es bei Gegenwart von freier Säure in Urobilin übergeht, so wird es gleichwohl schwer fallen, es bei diesen Bestimmungen auszuschliessen.

Weitere bei dem Verfahren berücksichtigungswerthe Umstände § 44. C. I. 1. S. 527.

B. Nach Saillet[1]).

A. Princip. Die Bestimmung beruht darauf, dass der Streifen des sauren Urobilins in einer 15 mm dicken Schicht einer Lösung gerade

[1]) Saillet, Revue de méd. **17.** 124. 1897.

noch wahrnehmbar ist, wenn die Lösung in 22 cc 1 mg enthält, d. i. bei 10 mm dicker Schicht 6,82 mg in 100 cc, wie beim Hämatoporphyrin. Diese Schätzung ist abhängig von der Lichtstärke, der Güte des Spectroscops und der Lichtempfindlichkeit des beobachtenden Auges.

Frisch gelassener oder im Dunkeln aufbewahrter Harn wird zu wenigstens 100 cc mit Essigsäure angesäuert und (bei Petroleumlicht) zweimal mit dem gleichen Volumen Essigäther geschüttelt. Die vereinigten Auszüge, welche das Urobilinogen bis auf Spuren enthalten, werden mit Wasser gewaschen, bis das Wasser farblos bleibt, wobei man Essigsäure hinzufügen soll, wenn das Waschen oft wiederholt werden muss. Durch das Waschen wird das bereits vorhandene Urobilin mit anderen Farbstoffen entfernt. Um das im Essigäther zurückgebliebene Urobilinogen in Urobilin überzuführen, bringt man die Lösung in Sonnenlicht und fügt ihr 1—2 % Salpetersäure zu. Man übersättigt mit Ammoniak und schüttelt mit so oft erneuten kleinen Mengen Wasser, als sich das Wasser noch färbt. Die Lösung, welche neben dem Urobilin auch das Hämatoporphyrin enthält, wird mit Salzsäure stark angesäuert und soweit mit gemessenen Mengen Wasser verdünnt, bis γ des Urobilins gerade noch sichtbar ist (vgl. dies. §. III.).

2. Colorimetrisch.

Alle in Vorschlag gebrachten Verfahrungsweisen ergeben nur unsichere Werthe.

A. Nach Viglezio[1]).

Es werden 300 cc Harn angesäuert und durch Auflösen von 230—240 g Ammonsulphat in demselben mit dem Salz gesättigt. Der entstandene Niederschlag von Urobilin (und Hämatoporphyrin) wird auf einem Filter mit gesättigter Ammonsulphatlösung gewaschen, dann mit 100—300 cc Alkohol extrahirt. Dann bringt man 10 cc Alkohol von 60 % in ein Reagensglas, setzt 2 Tropfen Ammoniak und 2 Tropfen einer Chlorzinklösung von 1—2 % hinzu und lässt nun von dem alkoholischen Auszug aus einer Burette so viel zufliessen, bis zuerst grüne Fluorescenz und später auch der Absorptionsstreifen des Urobilinzinks auftritt; bis dahin braucht man ungefähr 3 mal so viel alkoholische Lösung als bis zum Erscheinen der Fluorescenz. Von Alkohol, welcher in 100 cc 0,01 g Jaffé'sches Urobilin enthielt, verbrauchte Viglezio 0,5 cc bis zum Eintritt der Fluorescenz und 1,6 cc bis zum Erscheinen des Absorptionsstreifens. Diese Zahlen werden der Berechnung des Urobilingehalts des Harns zu Grunde gelegt.

B. Nach A. Studensky[2]).

Man versetzt 20 cc Harn mit $^1/_{10}$ Vol. gesättigter Kupfersulphatlösung, löst in dem Gemisch Ammonsulphat bis zur Sättigung und schüttelt in einem Scheidetrichter mit 10 cc Chloroform. Der Zusatz von Kupfersulphat geschieht, weil durch das Salz das Urobilin in Freiheit gesetzt und so angeblich vollständiger

---

1) Viglezio. Lo sperimentale 1891. 235; Jahresber. f. Thierch. 22. 537.

2) A. Studensky, Petersburger med. Wochenschr. 1893. 283; Chem. Centralbl. 1893. 2. 668.

abgeschieden wird, als durch Ammonsulphat allein. Sobald sich eine Schicht kupferrothes Chloroform abgesetzt hat, lässt man sie in ein Reagensglas fliessen und sucht von bereit gehaltenen Lösungen von Urobilin in Chloroform mit bekanntem Gehalt diejenige aus, welche ebenso stark gefärbt ist, wie die aus dem Harn gewonnene Probe. Die zum Vergleich dienenden Urobilinlösungen werden in derselben Weise hergestellt, wie bei der Analyse des Harns; in einer abgemessenen Menge der Lösung wird durch Verdunsten des Chloroforms und Wägen des bei 90—100° getrockneten Rückstands der Gehalt an Urobilin bestimmt und durch Verdünnen mit Chloroform Lösungen verschiedener Concentrationen hergestellt. Man bewahrt sie mit gesättigter Ammonsulphatlösung gut verstöpselt auf.

C. Nach F. Grimm[1]).

Es werden 10 cc angesäuerter Harn mit Aether oder mit Chloroform geschüttelt, der Auszug verdunstet, der Rückstand in Ammoniakwasser gelöst und mit einigen Tropfen einer verdünnten Chlorzinklösung versetzt, worauf die Flüssigkeit die grüne Fluorescenz zeigt. Man verdünnt dann mit gemessenen Mengen Wasser, bis die Fluorescenz gerade noch deutlich wahrnehmbar ist; man kann dabei so verfahren, dass man ein Reagensglas bei 5 und bei 10 cc mit einer Marke versieht, die ursprüngliche Lösung auf 10 cc bringt, die Hälfte entfernt und durch Wasser ersetzt u. s. f. Man erfährt so einigermaassen den relativen Gehalt verschiedener Harne an Urobilin.

3. Gewichtsanalytisch nach G. Hoppe-Seyler[2]).

A. Princip.

Das Verfahren beruht, wie das von Fr. Müller, auf der Unlöslichkeit des Urobilins in gesättigter Ammonsulphatlösung; der Harn wird direkt mit dem Ammonsalz gesättigt. Etwa vorhandener Gallenfarbstoff wird zuvor durch Fällen des Harns mit Kalkmilch und Einleiten von Kohlensäure entfernt und darnach der Niederschlag gut ausgewaschen: es unterbleibt aber, im Gegensatz zu dem Verfahren von Fr. Müller, die Behandlung des Harns mit Baryt und damit die Beseitigung des gleichfalls durch Ammonsulphat fällbaren Hämatoporphyrins, dessen Bedeutung für die Analyse der Harnfarbstoffe bei der Ausarbeitung des Verfahrens noch nicht bekannt war. Vergleichende Untersuchungen ergaben darum Fr. Müller[3]) nach dem Verfahren von Hoppe-Seyler auch meist erheblich grössere Werthe als nach seinem eigenen. In dieser Hinsicht ist die Methode also verbesserungsfähig.

B. Ausführung.

Es werden 100 cc Harn mit Schwefelsäure angesäuert und mit Ammonsulphat gesättigt; filtrirt darf erst nach längerer Zeit werden, weil das Urobilinogen nur langsam in Urobilin übergeht. Der flockige rothe Niederschlag wird auf einem Filter mit concentrirter Ammon-

---

1) F. Grimm, Virchow's Archiv **132**. 250. 1893.
2) G. Hoppe-Seyler, Virchow's Archiv **124**. 34. 1891.
3) Fr. Müller, briefliche Mittheilung.

sulphatlösung gewaschen, abgepresst und zweimal hinter einander mit einer Mischung von Chloroform und Alkohol nach gleichem Volumen ausgezogen. Das ungelöst Gebliebene ist zwar gewöhnlich noch bräunlich, giebt aber auch an andere Lösungsmittel, wie Amylalkohol, kein Urobilin mehr ab.

Die Auszüge filtrirt man in einen Scheidetrichter, schüttelt mit (etwa dem doppelten Volumen) Wasser, lässt das Chloroform, nachdem es sich klar abgesetzt hat (durch ein kleines Filter) in ein gewogenes Becherglas fliessen, verdunstet das Chloroform, wäscht es mit etwas Aether, filtrirt und löst den Filterrückstand in Alkohol. Diese alkoholische Lösung verdunstet man in dem gewogenen Becherglas, trocknet und wägt.

Der mehr oder minder gelbliche bis rothbraune Rückstand löst sich zwar gut in Chloroform, besteht aber zum Theil aus »verändertem« Urobilin. Bei schneller Arbeit und wenn nicht über 100^{0} getrocknet wird, erhält man nach Hoppe-Seyler einen Farbstoff mit allen Eigenschaften des Urobilins.

II. Bestimmung des Bilirubins.

1. Titrimetrisch nach Jolles.

Zur annähernd quantitativen Bestimmung des Bilirubins hat Jolles[1]) das Titriren desselben mit Jod in Vorschlag gebracht.

Das Verfahren beruht darauf, dass sich Bilirubin unter der Einwirkung von alkoholischer Jodlösung allmählich in eine grüne Verbindung verwandelt, sehr wahrscheinlich nicht ein Oxydationsproduct, wie Jolles meint, sondern ein Substitutionsproduct (§ 44. A. IV. B. a. 7. S. 540). Bis zur völligen Ueberführung dieser Substanz werden auf 1 Mol. Bilirubin annähernd 4 At. Jod verbraucht[2]).

Das Bilirubin wird aus dem Harn durch Zusatz von Chlorbaryum und Chloroform in einem eigens gestalteten Schütteltrichter abgeschieden. Derselbe ist cylindrisch, unmittelbar über dem Hahn zu einer Kugel aufgeblasen, auf welcher der übrige cylindrische Theil aufsitzt. Die Kugel trägt in ihrer Mitte eine Marke für 5, am oberen Ende eine solche für 10 cc. Der Cylinder ist (überflüssiger Weise) von 20—60 cc in cc getheilt. Ueber der obersten Marke befindet sich noch ein ungefähr 60 cc fassender freier Raum. Der Apparat ist a. a. O. abgebildet und kann von Lenoir u. Forster, Wien IV, Waaggasse, bezogen werden.

In den Cylinder kommen 5 cc Chloroform, 5—25 cc filtrirter Harn, 10 cc 20 proc. Chlorbaryumlösung, 2 cc 2 proc. Schwefelsäure und bis zur Marke für 50 cc Wasser. Es wird dann 5 Min. lang tüchtig geschüttelt, und nachdem sich das Chloroform mit dem Niederschlag abgesetzt hat, dieses bis auf einen kleinen Rest in ein Kölbchen von 200 cc Fassungsraum abgelassen. Man schüttelt noch

---

1) A. Jolles, Wiener med. Wochenschr. 20. 21. 1894.
2) A. Jolles, Pflüger's Archiv 57. 1. 1894.

2 mal mit je 5 cc Chloroform, und lässt es wieder abfliessen, die letzte Portion vollständig, aber ohne Harn.

Zu dem Chloroform lässt man dann unter fortwährendem Umschwenken eine alkoholische 1/100 n Jodlösung (mit 1,27 g Jod im Liter) hinzufliessen, bis die Flüssigkeit grün geworden ist, und setzt dann einige cc frische Stärkelösung hinzu. Tritt Blaufärbung ein, so titrirt man mit 1/100 n auf die Jodlösung gestellte Thiosulphatlösung zurück bis zu reinem Grün. Färbt sich die Flüssigkeit auf Zusatz der Stärkelösung nicht blau, so setzt man noch Jod bis zur Blaufärbung zu und titrirt dann auch zurück. — 1 cc 1/100 n Jodlösung zeigt 1,44 mg Bilirubin an.

Wenn mehr als 10 cc Jodlösung verbraucht werden, soll man den Versuch mit weniger Harn wiederholen, weil in der stark grün gefärbten Flüssigkeit das Blau der Jodstärke schwer zu erkennen ist. Von stark icterischem Harn nimmt man daher gleich nur 5, höchstens 10 cc.

100 cc normaler oder pathologischer, nicht icterischer Harn verbrauchen bei diesem Verfahren 0—0,8 cc der Jodlösung.

2. Gewichtsanalytisch nach Stadelmann.

Stadelmann[1]) hat sich folgenden, mit grossen Verlusten verbundenen Verfahrens bedient (vgl. S. 553). Der Harn wird mit Kalkmilch ausgefällt, der Niederschlag gewaschen, bis die Flüssigkeit farblos abläuft, etwas getrocknet und in einer mit einer Kältemischung abgekühlten Reibschale mit Salzsäure bis zu schwach alkalischer Reaction versetzt. Der Niederschlag wird wieder gewaschen, bis das Filtrat farblos ist, getrocknet, gepulvert und mit Chloroform unter sehr vorsichtigem Zusatz von Salzsäure extrahirt, zuletzt in der Wärme. Man destillirt das Chloroform ab, wäscht den Rückstand mehrmals mit Aether und krystallisirt das Urobilin aus Chloroform um. Die reine Substanz wird getrocknet und gewogen.

III. Bestimmung des Hämatoporphyrins.

Spectrophotometrisch nach Saillet[2]).

A. Princip. Saillet hat ermittelt, dass der dunkle Streifen des sauren Hämatoporphyrinspectrums wie beim Urobilin in 15 mm dicker Schicht der Lösung gerade noch sichtbar ist, wenn die Lösung in 22 cc 1 mg Hämatoporphyrin enthält (oder bei 10 mm dicker Schicht 6,82 mg in 100 cc). Ein abgemessenes Volumen der Lösung wird durch zugemessene Mengen Wasser bis zu diesem Grade verdünnt und aus der Grösse der Verdünnung der Gehalt der Lösung an Hämatoporphyrin berechnet.

Das Verfahren ist nicht genau, da das minimale Spectrum an und für sich kein sicheres Maass darstellt und die Sichtbarkeit des Streifens ausserdem noch abhängt von der Stärke der Lichtquelle und andren Umständen (vgl. diesen § I. 1. B.).

---

1) E. Stadelmann, Archiv f. exper. Pathol. 16. 128. 1883.
2) Saillet, Revue de médecine 16. 543 u. 552. 1896; 17. 125. 1897.

B. Ausführung. Es werden 100—200 cc Harn mit 10 Tropfen Eisessig auf 100 cc versetzt und mit dem gleichen Volumen Essigäther ausgeschüttelt. Der vom Harn getrennte Aether wird darauf mit einem kleinen Volumen 5 proc. Salzsäure geschüttelt und die so erhaltene saure Hämatoporphyrinlösung zur Bestimmung verwendet.

Wenn man dem Harn alles Hämatoporphyrin entziehen will, so muss das Ausschütteln des Harns mit frischem Essigäther in gleicher Menge wiederholt werden. Da ferner nach Saillet der frisch entleerte Harn nur 1/4 des Farbstoffs als solchen, 3/4 als Chromogen enthält, und dieses bei der Belichtung der ätherischen Lösung in den Farbstoff übergeht, so muss der ätherische Auszug der Einwirkung des Sonnenlichts ausgesetzt und so lang mit der verdünnten Salzsäure behandelt werden, als diese noch Farbstoff aufnimmt.

IV. Bestimmung des Indigblaus.

Die zur Bestimmung des Indigblaus dienenden Methoden sind § 67. S. 787 beschrieben.

Zusätze und Verbesserungen.

S. 100 Z. 10 v. u. und S. 104 Z. 4 v. u. lies Allein statt Allain.

S. 100 5. a. Zersetzungsprodukte der Glukose durch Alkalihydrat (Glyoxal und Methylglyoxal). (G. Pinkus, Ber. d. chem. Gesellsch. **31**. 31. 1898).

S. 145 Z. 10 v. o. lies: für Glykogen verschiedener Darstellung die Formel 10 $C_6H_{10}O_5$ und eine nur $^2/_3$ so grosse.

S. 145 Z. 11 v. u. zu Sabanejew: Chem. Centralbl. 1891. **1**. 10.

S. 175. Feste Fettsäuren finden sich constant im normalen Menschenharn. S. Hybinette, Skand. Archiv **7**. 380. 1897.

S. 190 Z. 1 v. o. lies: bleiben beim Waschen mit Wasser zurück, statt: lassen sich . . . .

S. 215. Z. 1 v. u. lies: VI statt V.

S. 216. A. Ueber den Werth der Methoden zur Bestimmung des Rhodans vergl. S. 730.

S. 253 Z. 5 v. u. lies: heissem statt frischem.

S. 267 Ueber Carbaminsäure: P. Nolf: Ztschr. f. physiol. Ch. **23**. 505.

S. 273 Z. 6 v. u. nach a. a. O. einschalten **13**.

S. 291 Mittheilungen von Mörner und Sjöqvist über Harnstoffgehalt des Harns, Skandin. Archiv **2**. 482. 1891.

S. 293 Z. 3 v. o. nach Pflüger: ;

S. 315 Zu den leichtlöslichen Verbindungen der Harnsäure mit organischen Basen gehört das Piperidinsalz, nach Tunnicliffe, Centralbl. f. Physiologie **11**. 434. 1897.

S. 331 § 34. A. Hinzuzufügen: 1-Methylxanthin. Die unbenannte Basis ist Hypoxanthin. Das Episarkin ist möglicher Weise mit dem Epiguanin identisch. Aus 10 000 Ltr. Harn (vom Menschen) stellten Krüger und Salomon dar 10,12 g Xanthin, 22,35 g Heteroxanthin, 31,32 g 1-Methylxanthin, 15,32 g Paraxanthin, (zusammen 79,10 g); 8,51 g Hypoxanthin, 3,54 g Adenin, 3,40 g Epiguanin (diese zusammen 15,45 g). (M. Krüger und G. Salomon, Ztschr. f. physiol. Ch. **24**. 380. 391. 1898; Sitzungsberichte der k. preuss. Akad. d. Wissensch. zu Berlin **4**. 47. 1898.)

S. 332 Z. 2 v. o. lies: unbenannte, statt unbekannte.

S. 334 7. Die Substanz, in welcher Salomon Episarkin vermuthete, hat sich als Epiguanin herausgestellt. (Krüger u. Salomon, Ztschr. a. a. O. 390.)

S. 336 In der Formel des Adenins giebt E. Fischer (Berichte der chem. Gesellsch. **30**. 2249) der Stellung 7 N und 9 NH den Vorzug.

S. 336 Z. 17 v. o. lies: Das Paraxanthin ist nach E. Fischer (Ber. **30**. 2401) 1,7 Dimethylxanthin, statt „Von den beiden . . .“.

S. 317 3. d. Auch das Adenin wird durch Bleiacetat und Ammoniak nicht niedergeschlagen. Die Fällung des Hypoxanthins mit ammoniakalischem Bleiacetat ist vollständig. In reinem Zustande werden Xanthin sowie 1-Methylxanthin durch basisch essigsaures Blei nicht niedergeschlagen (Krüger u. Salomon, Ztschr. 370. 389. 394).

S. 337 3. f. Nur Guanin und Adenin geben in kalter wässriger Lösung ihrer Salze mit Kupfersulphat und Thiosulphat Niederschläge. Heteroxanthin, 1-Methylxanthin und Epiguanin werden, wie die anderen Xanthinbasen, durch Kupfersulphat und Bisulphit schon in der Kälte gefällt (Krüger u. Salomon, Zeitschr. 370. 382. 391).

S. 338 4. Die Verbindungen des Xanthins und seiner Homologen mit Salzsäure, Salpetersäure oder Schwefelsäure werden durch Wasser vollständig zersetzt.

S. 339 10. Eine stark verdünnte Epiguaninlösung bleibt mit wenig Quecksilberchlorid klar, und giebt mit mehr Reagens auch nur eine Trübung, keinen flockigen Niederschlag (Krüger u. Salomon, Ztschr. 388).

S. 345 Xanthin.

5. Das Nitrat ist in mässig verdünnter concentrirter Salpetersäure so gut wie unlöslich.

6. Die Verbindung mit Silbernitrat ist schwerer löslich als die des Heteroxanthins; sie krystallisirt in stark lichtbrechenden kugligen Aggregaten mikroskopischer Nadeln und bildet im Gegensatz zum 1-Methylxanthin ein schweres Krystallpulver. (Krüger u. Salomon, Sitzungsber. 45; Ztschr. 372. 383 und private Mittheilung.)

S. 346 Heteroxanthin.

2. die Basis schmilzt gegen 380^0 unter Gasentwicklung (E. Fischer, Ber. **30.** 2404).

3. löst sich in 142 Thlen siedendem Wasser (E. Fischer, a. a. O).

4. Das Natriumsalz enthält 5 H_2O und verliert das Krystallwasser vollständig erst bei 110—120^0. Es löst sich, auf die freie Basis berechnet, in 2077 Thlen 3,3 proc. Natronlauge. Aus der heissen Lösung desselben scheidet Kohlensäure die Basis krystallinisch ab..

5. Das Nitrat ist schwerer löslich als das Chlorid und krystallisirt aus 10 proc. Salpetersäure in rhombischen Plättchen, deren Längsseiten nach aussen gebogen sind.

6. Die Verbindung mit Silbernitrat fällt aus Salpetersäure von 1,1 Dichte als schweres aus rhombischen Plättchen und häufig zu zweien durchwachsenen Prismen bestehendes Pulver; sie ist leichter löslich als die entsprechende Xanthinverbindung; die Basis wird auch gefällt durch Kupferacetat sowie durch Bleiacetat und Ammoniak. Kupfersulphat und Bisulphit giebt bei schwachem Erwärmen mit der Basis noch in einer Verdünnung von 1 : 50000 einen deutlichen flockigen Niederschlag, Kupfersulphat und Thiosulphat fällt nur in der Wärme (vergl. 4). (Krüger u. Salomon, Sitzungsber. 45, Ztschr. 369).

S. 348 IIb. 1-Methylxanthin, $C_5H_3N_4O_2 . CH_3$

1. Scheidet sich aus Wasser in der Form mikroskopischer gleichförmiger Rosetten als farbloses nicht glänzendes Krystallpulver ab. Beim Eindampfen seiner salzsauren oder ammoniakalischen Lösung auf dem Wasserbade, manchmal auch beim Uebersättigen seiner Lösung in fixem Alkali wird es als lockere irisirende Masse gewonnen; dieselbe besteht aus

Geschieben rhomboidaler, äusserst dünner und schwach lichtbrechender Tafeln, an denen zumeist eine Ecke abgestumpft ist und die benachbarte sich einem rechten Winkel nähert; daneben finden sich vielfach kleinere weniger entwickelte, zu Büscheln angeordnete Tafeln und in grosser Menge spitze Krystalltrümmer.

2. Löst sich schwer in kaltem Wasser, jedoch beträchtlich leichter als das Xanthin, leicht in Ammoniak und in Natronlauge, sowie in verdünnter Salzsäure, Salpetersäure und Schwefelsäure.

3. Beim Einengen seiner Lösung in 15 proc. Natronlauge krystallisirt die Natriumverbindung in makroskopischen glasglänzenden Prismen mit endständiger Abdachung, auch in sechsseitigen Tafeln. Leichtlöslich in Wasser. In schwacher Ammonnitratlösung verwandeln sich die Krystalle fast unmittelbar in Büschel und Einzelexemplare gut ausgebildeter Nadeln.

4. Das Chlorid und das Nitrat krystallisiren erst nach starker, in der Kälte erfolgter Einengung. Das Chlorid bildet schöne glasglänzende rhombische Plättchen und Säulen, das Nitrat lange vierseitige Prismen mit zweiflächiger Abstumpfung, in verkürzter Form sechsseitige Plättchen. Diese Salze werden durch Wasser leicht zersetzt. Aus concentrirten Lösungen scheidet sich das Chloroplatinat in sternförmig gruppirten Nadeln oder in Prismen, das Chloraurat in glänzenden rhombischen Säulen aus.

5. Quecksilberchlorid giebt nur eine in der Wärme verschwindende Trübung, auf nachfolgendem Zusatz von Natriumcarbonat einen weissen flockigen Niederschlag. — Ammoniakalische Silberlösung fällt gallertig. Aus der Lösung in Salpetersäure von 1,1 Dichte fällt die Verbindung der Base mit salpetersaurem Silber als voluminöser Niederschlag in Rosetten kleiner Nadeln, wodurch sie sich von der des Xanthins unterscheidet. Sie besitzt dieselbe Löslichkeit wie das Xanthin-Silbernitrat. Kupfersulphat und Bisulphit erzeugen in der Kälte einen voluminösen, in der Wärme einen weissen flockigen Niederschlag; Kupfersulphat und Thiosulphat fällen nur in der Wärme.

6. Beim Verdampfen der Substanz mit Salpetersäure von 1,4 Dichte zur Trockne hinterbleibt ein gelber Fleck, der mit Natronlauge orangefarben wird; in der Wärme ist diese Färbung lebhafter. Der nach dem Verdunsten der Substanz mit Kaliumchlorat und Salzsäure auf dem Wasserbade bleibende Rückstand färbt sich in einer Ammoniakatmosphäre stark purpurroth. Natronlauge färbt den Rückstand ebenso; setzt man nach dem Erkalten ein paar Tropfen Wasser zu, so tritt plötzlich eine prächtige blauviolette Färbung auf, die beim Erwärmen verschwindet. Besonders schön tritt die Färbung, von purpurroth bis intensiv violett, ein, wenn die Xanthinprobe in der von E. Fischer (S. 341) angegebenen Weise angestellt wird. (Krüger u. Salomon, Ztschr. 381 und private Mittheilung.)

S. 348 Paraxanthin.

2. Schmilzt bei 295—296° (E. Fischer, Berichte **30**. 2408).

3 löst sich in 24 Theilen heissem Wasser (E. Fischer, daselbst).

5. Das Chloroplatinat bildet orangefarbene makroskopische asymmetrische Tafeln, welche beim Trocknen über Schwefelsäure schnell in ein gelbes Pulver zerfallen (Krüger u. Salomon, Ztschr. 376).

S. 353 Hypoxanthin.

4. Durch Bleiacetat und Ammoniak wird das Hypoxanthin aus seinen Lösungen in Form eines gelatinös-flockigen Niederschlags vollständig gefällt (Krüger u. Salomon, Ztschr. 389 385. 392. 388).

5. Beim Erkalten der salzsauren Lösung krystallisiren vierseitige, zweiflächig zugespitzte Prismen aus. — Vom Nitrat löst sich 1 g in

940 Thln einer auf das 10fache Volumen verdünnten Salpetersäure von 1,4 Dichte. Eine solche heiss bereitete Lösung setzt beim Erkalten die Verbindung in spitzen wetzsteinförmigen Rhomben ab, concentrirte Salpetersäure fällt sie aus wässriger Lösung dagegen in tonnenförmigen Krystallen (den Rhomben ohne Spitzen). — Das Pikrat erhält man in den von Wulff beschriebenen grossen wohl ausgebildeten Krystallen, wenn man die heisse Lösung eines Hypoxanthinsalzes (des Nitrats) mit Pikrinsäure in geringem Ueberschuss versetzt und in der Ruhe erkalten lässt. In Gegenwart anderer Basen, wie 1-Methylxanthin, und in der Kälte scheidet sich das Pikrat langsam in kleinen kugligen, aus spitzen Krystallen bestehenden Aggregaten ab. Schüttelt man eine erkaltete Lösung kurze Zeit kräftig, so erhält man ein schweres, weniger glänzendes Pulver in charakteristischen Formen; die kleineren Krystalle bestehen aus wohlausgebildeten dicken rhombischen Tafeln, die grösseren sind Wetzsteine mit abgebrochenen Spitzen. Das Pikrat löst sich in ungefähr 400 Theilen kaltem Wasser. Bei 200° beginnt es sich dunkler zu färben, ohne einen bestimmten Schmelz-, oder Zersetzungspunkt zu zeigen. Von der Pikrinsäure lässt sich die Basis befreien, wenn man die Lösung des Salzes mit Schwefelsäure versetzt und mit Benzol (oder Toluol) ausschüttelt.

6. Eine Hypoxanthinlösung wird schon durch sehr wenig Quecksilberchlorid flockig gefällt. (Krüger u. Salomon, Ztschr. 389. 385. 392. 388 und private Mittheilung.)

S. 355 Adenin.

4. Mit Bleizucker, Bleiessig oder Bleiacetat und Ammoniak giebt das Adenin keinen Niederschlag.

5. Das Chloraurat zersetzt sich unter Gasentwicklung bei 215—216°. Das Adenin bildet noch ein zweites Chloraurat, vermuthlich $C_5H_5N_5$, $HAuCl_4$, x H_2O; dieses scheidet sich aus der concentrirten salzsauren Lösung auf Zusatz von Goldchlorid sofort in gelben nadelförmigen Prismen ab und ist bis 250° beständig. — Das Sulphat scheidet sich mit 2 H_2O in tafelförmigen Krystallen aus der mit Ammonsulphat versetzten concentrirten Lösung des Chlorids langsam ab. — Das Pikrat fällt aus heisser wässriger Lösung wasserfrei in makroskopischen dunkelgelben Prismen. Es zersetzt sich unter Gasentwicklung bei 279—281°. Durch Lösen in heisser verdünnter Salzsäure und Schütteln mit Toluol (oder Benzol) kann es von der Pikrinsäure befreit werden.

6. Schon sehr wenig Quecksilberchlorid erzeugt in einer Lösung der Basis sofort einen flockigen Niederschlag (Krüger u. Salomon, Ztschr. 384. 391. 392. 388).

S. 361 Z. 1 u. 11 v. u. lies: M. Krüger u. C. Wulff, statt M. Krüger. — Z. 1 v. u. lies 553, statt 533.

S. 361. Die unbenannte Basis ist Hypoxanthin.

S. 361 Epiguanin.

Möglicher Weise identisch mit Episarkin.

1. Scheidet sich beim Verdunsten seiner wässrigen Lösung auf der Oberfläche der Flüssigkeit in glänzenden prismatischen Krystallen ab; bei weiterem Einengen und beim Erkalten vermehren sie sich nicht wesentlich. Beim Fällen der Lösung in Natronlauge mit einer Säure tritt die Basis in Prismen auf, die lufttrocken eine verfilzte Masse von mattem Seidenglanz bilden. Einmal wurden beim Fällen einer stark salzsauren Lösung mit Ammoniak wetzsteinförmige Krystalle erhalten, die beim Umkrystallisiren aber wieder in Prismen übergingen.

2. Schwer löslich in heissem Wasser, fast unlöslich in kaltem.

3. Die Basis wird weder durch Bleizucker, noch durch Bleiessig oder Bleiacetat und Ammoniak niedergeschlagen.

4. Das Chloraurat bildet beim Verdunsten seiner wässrigen Lösung in der Kälte makroskopische glänzende polyedrische Krystalle. — Das Pyrochromat scheidet sich auf Zusatz von Kaliumpyrochromat zur Lösung des salzsauren Salzes nach kurzer Zeit in gelben glänzenden feinen vierseitigen Prismen ab. — Noch in einer Verdünnung der Basis von 1 : 1000 giebt concentrirte Pikrinsäurelösung nach kurzer Zeit einen glänzenden aus rhombischen und sechsseitigen Plättchen bestehenden Niederschlag; aus stärkeren Lösungen fallen sofort feine gebogene, zu Büscheln und Fächern vereinigte Nadeln aus.

5. Eine Lösung von 1 : 5000 bleibt bei Zusatz von wenig Quecksilberchlorid zunächst vollkommen klar, erst eine grössere Menge Reagens ruft eine allmählich zunehmende Trübung hervor. — Kupfersulphat und Bisulphit geben in der Kälte einen gallertigen, in der Wärme einen flockigen Niederschlag; Kupfersulphat und Thiosulphat rufen erst in der Wärme einen flockigen weissen, sich allmählich bräunenden Niederschlag hervor.

6. Der bei der Murexidprobe mit Natronlauge auftretende orangerothe Fleck wird beim Erwärmen dunkler und an einzelnen Stellen violett; die Reaction ist jedoch mit der des Xanthins an Stärke nicht zu vergleichen. Der beim Eindampfen mit concentrirter Salzsäure und Kaliumchlorat hinterbleibende weisse Rückstand färbt sich in ammoniakhaltiger Luft violettroth (Krüger u. Salomon, Ztschr. 387).

S. 362. C.

Zur Untersuchung des Silberniederschlages (aus 10 000 Ltr. Harn) verfuhren Krüger und Salomon in folgender Weise. Nachdem aus der Xanthinfraction (§ 34. C. II. *a*. S. 366) das Heteroxanthin mittelst seiner schwer löslichen Natriumverbindung rein abgeschieden worden war, wurden die in Lösung gebliebenen Basen aus der heissen Mutterlauge durch Neutralisiren mit Salzsäure und der Rest mit ammoniakalischer Silberlösung niedergeschlagen, beide Niederschläge in Salpetersäure von 1,1 Dichte gelöst und mit 10 proc. Silbernitratlösung gefällt. Der dabei entstandene Niederschlag enthielt Xanthin und 1-Methylxanthin. Das Filtrat schied nach dem Fällen mit Ammoniak und dem Zerlegen des Niederschlags mit Schwefelwasserstoff beim Concentriren der Lösung noch Heteroxanthin mit etwas Xanthin ab, in Lösung blieb Paraxanthin. Die beiden Basen wurden an ihren Natriumsalzen erkannt.

Die Hypoxanthinfraction wurde in die Verbindung mit Silberoxyd übergeführt, diese nach dem Wegwaschen der Salpetersäure mit Salzsäure zersetzt, die Lösung nach dem Neutralisiren mit Natronlauge der Reihe nach mit Bleiessig, mit Bleiacetat und Ammoniak und mit ammoniakalischer Silberlösung ausgefällt. Der mit Bleiessig entstandene Niederschlag enthielt Xanthin und 1-Methylxanthin, der mit Bleiacetat und Ammoniak 1-Methylxanthin, Hypoxanthin und wenig Adenin, der Silberniederschlag Epiguanin und Adenin. Adenin und Epiguanin sind also durch die Bleisalze nicht gefällt worden. In den Bleiessigniederschlag waren Xanthin und 1-Methylxanthin übergegangen, wiewohl diese Basen in reinem Zustand durch das Reagens nicht gefällt werden; sie wurden nicht getrennt. Aus der Lösung des vom Blei befreiten, mit ammoniakalischem Bleiacetat gewonnenen Niederschlags krystallisirte das 1-Methylxanthin direct aus; die Mutterlauge wurde mit Salzsäure eingedampft, der Rückstand auf dem Wasserbad so lang erwärmt, bis keine Salzsäuredämpfe mehr entwichen und mit wenig kaltem Wasser digerirt;

das 1-Methylxanthin blieb als solches ungelöst zurück, in Lösung gingen als salzsaure Salze das Adenin und das Hypoxanthin. Das Adenin wurde mit Pikrinsäure ausgefällt, das Hypoxanthin nach Entfernung der Pikrinsäure durch Schütteln mit Schwefelsäure und Benzol erst in die Verbindung mit Silberoxyd und dann in das charakteristische Nitrat und Pikrat übergeführt und als Chlorid analysirt. Der das Epiguanin und die Hauptmenge des Adenins enthaltende Silberniederschlag wurde mit Schwefelwasserstoff zerlegt. Aus der Lösung krystallisirte das Epiguanin schon beim Einengen aus. Das Filtrat enthielt das Adenin, wie sich aus seiner Fällbarkeit durch Kupfersulphat und Thiosulphat und der Untersuchung des Pikrats, Aurochlorids und Sulphats ergab. (Krüger und Salomon, Zeitschrift 367.)

Zur Trennung der Xanthinbasen führen Krüger und Salomon ein neues Verfahren ein, welches sich in vortheilhafter Weise von dem bei der Silbermethode (S. 365) u. A. dadurch unterscheidet, dass es die Trennung des Niederschlags durch heisse Salpetersäure von 1,1 Dichte in eine Xanthin- und eine Hypoxanthinfraction vermeidet. Diese Scheidung ist niemals eine vollständige, auch dann nicht, wenn die Hypoxanthinfraction umkrystallisirt wird. Auch bildet sich bei der Behandlung des oxydable Substanzen (Harnsäure u. a.) enthaltenden Silberniederschlags mit der heissen Salpetersäure salpetrige Säure, welche Guanin in Xanthin, Adenin sowie Carnin in Hypoxanthin überführt, ein Uebelstand, der sich auch durch reichlichen Zusatz von Harnstoff nicht beseitigen lässt.

Der mit ammoniakalischer Silberlösung erhaltene und gewaschene Niederschlag der gesammten Xanthinbasen (S. 362) wird in gelinder Wärme mit verdünnter Salzsäure zerlegt, wobei man die Vollendung der Zersetzung daran erkennt, dass die Farbe des Niederschlags aus röthlichgelb nach weiss umschlägt und sich das gebildete Chlorsilber schnell absetzt. Die in Freiheit gesetzten Basen werden durch Zusatz der gleichen Menge Salzsäure in Lösung gebracht; von der Harnsäure bleibt der grösste Theil bei dem Chlorsilber, ein kleiner in Lösung befindlicher Rest wird später bei der Trennung des Xanthins vom Methylxanthin durch Salpetersäure zerstört.

Das weitere Verfahren bezweckt zunächst die Abscheidung des Xanthins und seiner Homologen aus der salzsauren Lösung und diese wird durch Benutzung des Umstandes erreicht, dass die salzsauren Salze dieser Basen in Berührung mit Wasser zerlegt werden. Demgemäss wird die salzsaure Lösung nach der Entfärbung mit wenig guter Thierkohle (S. 112) im Wasserbad verdunstet und der Rest Salzsäure durch zweimaliges Eindampfen des Rückstandes mit Wasser und einmaliges Eindampfen mit 96 proc. Alkohol vertrieben. Der durch den Alkohol pulvrig gewordene Rückstand wird mit Wasser bei 40° digerirt, nach mehrstündigem Stehen in der Kälte abfiltrirt und mit Wasser salzsäurefrei gewaschen. Man wäscht ihn darauf noch mit Alkohol und mit Aether. Das Filtrat wird noch einmal eingedampft und in derselben Weise behandelt, wobei nur ein geringer, in Wasser unlöslicher Rückstand bleibt, der mit dem ersten vereinigt wird. Der Rückstand besteht aus Xanthin, Heteroxanthin und 1-Methylxanthin, während das Paraxanthin, von den Gliedern der Xanthingruppe das am Leichtesten lösliche, mit den salzsauren Salzen der übrigen Basen in Lösung bleibt.

Um die drei Basen zu trennen, löst man sie in der 15fachen Menge warmer 3,3 proc. Natronlauge, beim Erkalten fällt das Natriumsalz des Heteroxanthins vollständig aus. Nach 24stündigem Stehen filtrirt man, rührt dann je 60 cc des Filtrats nach dem Erwärmen auf 60° in ein kaltes Gemisch von 20 cc Wasser und 20 cc ausgekochter concentrirter Salpetersäure allmählich ein, und lässt mehrere Stunden bei niederer Temperatur

stehen, wobei sich das Xanthinnitrat vollständig abscheidet. Von noch etwas beigemengtem 1-Methylxanthin befreit man den Niederschlag in der Weise, dass man ihn mit Wasser übergiesst, in der Kälte neutralisirt, heiss in möglichst wenig Natronlauge löst und die 60° warme Lösung wieder, wie vorher, in die halbverdünnte Salpetersäure giesst; die Mengenverhältnisse wählt man so, dass 3g des rohen Nitrats wieder auf 100 cc Flüssigkeit mit 20 cc concentrirter Salpetersäure kommen. Das Xanthinnitrat ist rein, sobald es sich als schweres Krystallpulver in den charakteristischen Formen absetzt. Um aus dem Nitrat das freie Xanthin darzustellen, wird das Salz in Ammoniak gelöst und das überschüssige Ammoniak verjagt; es scheidet sich dabei völlig rein und schneeweiss ab. Das 1-Methylxanthin wird aus der vom Xanthinnitrat abfiltrirten Flüssigkeit durch Neutralisiren mit Natriumcarbonat gefällt, der dabei in Lösung bleibende Rest durch ammoniakalische Silberlösung, oder bequemer, nach dem Neutralisiren, durch Kupfersulphat und Natriumbisulphit.

Aus der salzsauren Lösung der übrigen Basen scheidet sich das Epiguanin schon bei schwachem Uebersättigen derselben mit Ammoniak sofort in kleinen glänzenden Prismen ab. Das Filtrat wird durch Erwärmen vom Ammoniak befreit und die neutrale, nicht zu concentrirte Lösung in der Kälte mit 1,1 proc. Pikrinsäurelösung vollständig ausgefällt, der aus Adenin-pikrat bestehende Niederschlag sofort abfiltrirt und mehrmals mit kaltem Wasser gewaschen. Ein grosser Ueberschuss von Pikrinsäure ist zu vermeiden. Aus dem Pikrat gewinnt man das freie Adenin in der Weise, dass man das Salz in heisser verdünnter Salzsäure löst und der noch heissen Lösung die Pikrinsäure durch Schütteln mit Toluol entzieht. Das Filtrat vom pikrinsauren Adenin wird mit Schwefelsäure angesäuert und die Lösung durch Toluol oder Benzol in der Kälte von der Pikrinsäure befreit. Die noch in Lösung befindlichen Basen werden durch ammoniakalische Silberlösung, oder durch Kupfersulphat und Bisulphit gefällt, der Niederschlag salzsäurefrei gewaschen, mit Schwefelwasserstoff zerlegt und das Filtrat verdunstet. Vom trockenen Rückstand löst man je 3 g in 100 cc auf das 10fache Volumen verdünnter concentrirter Salpetersäure in der Wärme; beim Erkalten krystallisirt reines Hypoxanthinnitrat aus.

Das Filtrat vom Hypoxanthin-Nitrat enthält nur noch geringe Mengen Hypoxanthin neben einem Rest Heteroxanthin, 1-Methylxanthin und das Paraxanthin. Man fällt sie wieder in Verbindung mit Silberoxyd oder Kupferoxydul und dampft die Lösung der in Freiheit gesetzten Basen ein. Der Rückstand wird in wenig verdünnter Salzsäure gelöst, die Lösung verdunstet und das Verdampfen nach Zusatz von Wasser mehrmals wiederholt, endlich der Rückstand mit wenig kaltem Wasser digerirt. Im Rückstand befindet sich Heteroxanthin und 1-Methylxanthin, welche durch 3,3proc. Lauge getrennt werden. Der in der Lösung befindliche Rest des Hypoxanthins und das Paraxanthin werden zur Beseitigung der Salzsäure wieder in die Silber- oder Kupferoxydul-Verbindung übergeführt, die gefällten Basen isolirt, die Lösung zur Trockene verdunstet und der Rückstand in möglichst wenig auf das 10fache verdünnter warmer Salpetersäure gelöst. Die Mutterlauge von dem auskrystallirten Hypoxanthin-Nitrat enthält das Paraxanthin, welches, in Freiheit gesetzt, sehr rein in Nadeln auskrystallisirt; das Paraxanthin könnte aus der Mutterlauge auch in Form seines Natriumsalzes gewonnen werden.

Falls unter den Basen auch Guanin enthalten ist, so findet sich dasselbe zum geringeren Theil beim Xanthin; der grössere Theil wird zugleich mit dem Epiguanin abgeschieden und lässt sich von diesem durch heisses (schwach ammoniakhaltiges) Wasser trennen, wobei das Epiguanin in Lösung geht, das Guanin zurückbleibt.

(Sitzungsberichte a. a. O. und briefliche Mittheilung, ausführlicher in Ztschr. f. physiol. Ch. 25).

S. 396 Z. 6 v. u. nach Harnsäure einschalten: und die Phosphorsäure.

S. 408 und 473.

V. Lenobel schied aus pathologischen Harnen durch Sättigen derselben mit Kochsalz protalbumoseähnliche Substanzen ab, welche, je nach der Art der Krankheit, die Gerinnung des Bluts verzögerten oder beschleunigten. Wiener klin. Rundschau 27. 1897.

S. 445, B. 1.

Das von Mittelbach untersuchte Fibrinogen war aus Pferdeblut dargestellt. C. D. Cramer (Ztschr. f. physiol. Ch. **23**. 82. 1897) fand für dasselbe $[\alpha]_D = - 50{,}5^0$, für Fibrinogen aus Rinderblut $[\alpha]_D = - 36{,}8$. Herrmann (daselbst **11**. 508) bestimmte für das durch Trypsin in Lösung gebrachte Rinderblutfibrin $[\alpha]_D$ zu $- 37{,}0^0$.

S. 460 Z. 5 v. o. lies: B. Eigenschaften.

S. 467. Ueber Verdauungsalbumosen: E. P. Pick Ztschr. f. physiol. Ch. **24**. 246.

S. 484. 4. Ein neuer Fall von typischer Albumosurie von Rosin, Berliner klin. Wochenschr. 48. 1897.

S. 495. 7 u. 484. 4.

Als den Eiweissbestandtheil des Hämoglobins hat N. Schulz ein von ihm Globin benanntes und von ihm eingehend untersuchtes Histon erkannt. In einigen Stücken ist es der Heteroalbumose des Harns ähnlich. Zeitschr. f. physiol. Ch. **24**. 454. 1898.

S. 518. B 1.

F. G. Hopkins und A. E. Garrod fanden die Zusammensetzung des Urobilins zu 64,58 % C, 7,84 H, 4,11 N und 24,47 O, während sich für das Hydrobilirubin $C_{32}H_{40}N_4O_7$ ein Stickstoffgehalt von 9,45 % ergiebt. Das Urobilin ist also sicher nicht identisch mit dem Hydrobilirubin. (Journ. of Physiol. **22**. 451. 1898.) Aus den Analysen von H. und G. lässt sich für das Urobilin berechnen $C_{32}H_{46}N_2O_9$, mit 63,79 % C, 7,64 H, 4,65 N und 23,92 O, oder $C_{18}H_{26}NO_5$ mit 64,28 % C, 7,74 H, 4,17 N, 23,81 O. Keine der Formeln ist sicher.

S. 553. Z. 15 v. u. lies: § 47 statt § 46.

S. 656. Z. 18 v. o. lies: 18,4 statt 18,6.

S. 656. Z. 19 v. o. lies: 1,0013 statt 0,09986.

S. 801. B. 3.

Das Kaliumsulphat enthält nicht selten Ammoniak. Von diesem befreit man es, wenn man eine Lösung desselben mit Kaliumcarbonat alkalisch macht und bei alkalischer Reaction so lang kocht, bis keine alkalisch reagirenden Dämpfe mehr entweichen. Man neutralisirt dann mit Schwefelsäure und dampft zur Krystallisation ein.

S. 840. Z. 15 v. o. zu streichen: bei geeignet saurer Reaction.

Register.

Verzeichniss der Abbildungen.



Tafel I.

Tafel I.

Fig. 1. Die biscuit- oder hantelförmigen Körner in der oberen Hälfte der Abbildung stellen die Formen dar, in welchen sich der kohlensaure Kalk aus alkalischem Harn, namentlich dem der Pflanzenfresser, ausscheidet. In ähnlichen Formen kann auch der oxalsaure Kalk und der schwefelsaure Kalk auftreten (Abbildung nach Funke). — Die grossen einzelnen oder zu Drusen gruppirten prismatischen Krystalle mit der eigenthümlichen Begrenzung ihrer Enden, welche die untere Hälfte der Abbildung einnehmen, sind Krystalle von einfach saurem phosphorsauren Kalk, $CaHPO_4 + 2\ H_2O$, wie sie sich zuweilen aus menschlichem Harn bei amphoterer Reaction absetzen.

Fig. 2. Oben salpetersaurer Harnstoff in Geschieben sechsseitiger Täfelchen, unten oxalsaurer Harnstoff, nach Funke.

Fig. 3. Die wohlausgebildeten Prismen in der oberen rechten Hälfte der Figur sind Krystalle der Hippursäure, die schlecht begrenzten und gefleckten Krystalle in der unteren linken Hälfte solche der Benzoësäure, beide nach Funke.

Fig. 4. Die aus dicht aneinander gelagerten Prismen bestehende Druse sowie die Prismenaggregate in der linken Hälfte sind Formen des Kreatinin-Chlorzinks, wie es bei der Fällung des Kreatinins aus Harn gewöhnlich gewonnen wird. — Die über einander geschichteten oder flügelförmig aneinander gelagerten dünnen Tafeln sind charakteristische Formen des kynurensauren Baryts.

Fig. 5. Die linke Hälfte veranschaulicht die Formen des Leucins. Sehr unreines Leucin tritt in den knolligen Körpern auf, an denen eine krystallinische Structur nicht oder kaum andeutungsweise zu sehen ist, das minder unreine bildet radiär gestreifte und gewimperte Kugeln. In den sehr zarten, in der oberen Hälfte abgebildeten Plättchen krystallisirt das reine Leucin aus ammoniakalischem Alkohol. — Rechts ist Tyrosin dargestellt. Die zwei Büschel sehr feiner sich kreuzender Nadeln bringen Tyrosin zur Anschauung, wie es sich aus wässriger Lösung ausscheidet; die aus deutlichen Prismen bestehende Tyrosindruse ist aus ammoniakalischem Alkohol auskrystallisirt.

Fig. 6. Links ist salpetersaures Xanthin-Silber, rechts salpetersaures Sarkin-Silber abgebildet. Die Xanthinverbindung besteht aus Drusen dünner, gewundener Nadeln, während die Sarkinverbindung in Drusen gerader oder bogenförmig gekrümmter, deutlich ausgebildeter Prismen in oft eigenthümlicher Anordnung auftritt.

Fig. 1.



Fig. 2.

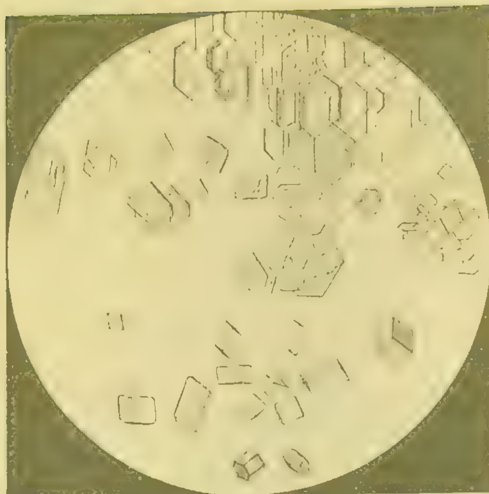


Fig. 3.

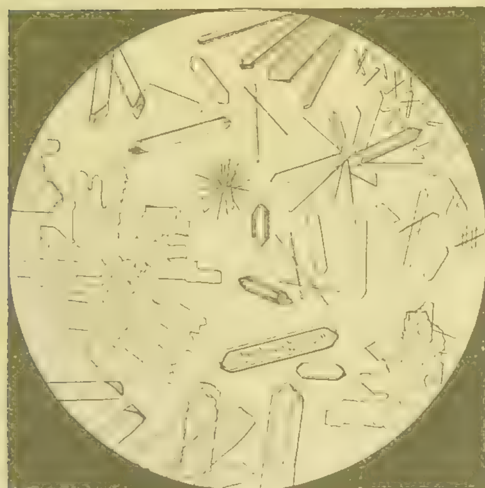


Fig. 4.

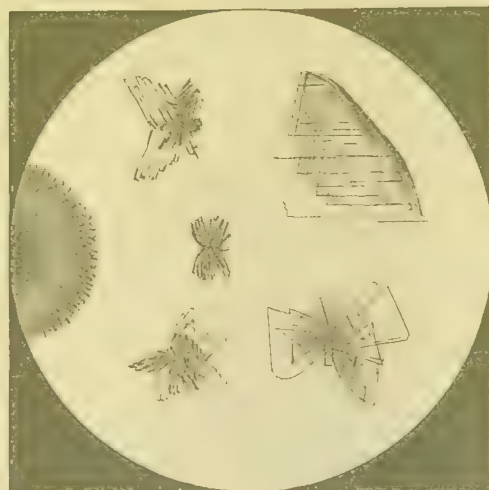


Fig. 5.

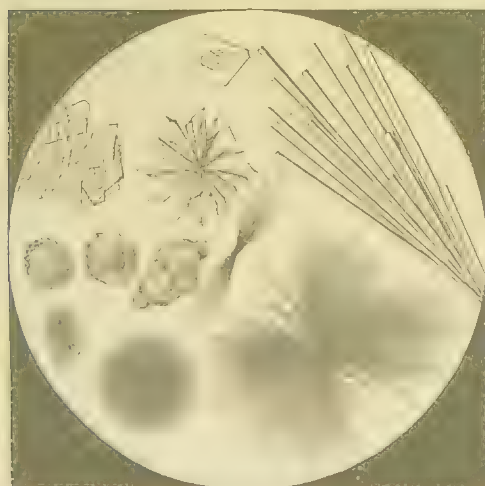
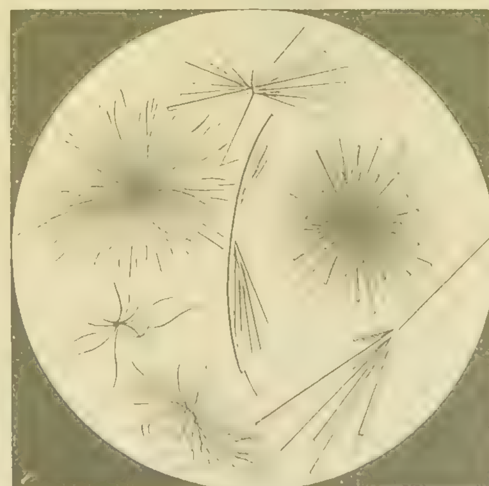


Fig. 6.



C. W. Kreidel's Verlag, Wiesbaden

Tafel II.

Tafel II.

Fig. 1. Die wohlausgebildeten Prismen und Prismendrusen der oberen Hälfte sind Formen des Allantoins, die regelmässigen sechsseitigen Täfelchen der unteren Hälfte solche des Cystins.

Fig. 2. Uratsediment aus saurem Harn. Die grossen und dicken rhombischen Tafeln mit zum Theil abgerundeten stumpfen Winkeln bestehen aus Harnsäure; einige derselben liegen auf der Kante. Die Oktaëder, welche von einem hellen Kreuz durchsetzt sind, stellen Krystalle des oxalsauren Kalks dar; die feine körnige Masse in der Umgebung der Krystalle besteht aus Quadriuraten. (Nach Funke.)

Fig. 3. Sediment aus ammoniakalischem Harn. Dasselbe besteht aus den grossen deutlichen Krystallen der phosporsauren Ammon-Magnesia (Tripelphosphat), den mit kleinen Prismen besetzten Kugeln des harnsauren Ammons und feinkörniger Masse, welche zum Theil aus normalen Phosphaten, zum Theil aus dem Micrococcus ureae gebildet wird. (Nach Funke.)

Fig. 4. Harnpilze. Die zwei Gruppen in der oberen Hälfte veranschaulichen den Micrococcus ureae. Die zwei- oder dreigliedrigen Stäbchen links zeigen den Pilz in seiner thätigen Form und in dem Entwicklungsstadium 48 Stunden nach der Aussaat, während rechts seine Zoogloea im Alter von 2—3 Wochen abgebildet ist. (Nach Präparaten von v. Jaksch). In der unteren Hälfte sind Fadenpilze von der Oberfläche sauren Harns dargestellt.

Fig. 5. Harncylinder. Links oben granulirter Cylinder, links unten granulirter Cylinder mit einem Belag von Nierenepithelien, in der Mitte granulirter Cylinder mit farblosen Blutkörperchen, in der Mitte oben hyaliner Cylinder mit ausgelaugten farbigen Blutkörperchen (Blutschatten), in der Mitte unten aus weissen Blutkörperchen bestehender Cylinder, rechts oben hyaliner Cylinder mit Nierenepithel, rechts unten granulirter Cylinder mit Fetttröpfchen und sog. Fettnadeln besetzt. Nach v. Jaksch.

Fig. 6. In der rechten unteren Hälfte der Figur sind rothe Blutkörperchen und Schleimkörperchen abgebildet. Die grösseren derselben sind Schleimkörperchen, sie sind granulirt und haben zum Theil amoeboide Ausläufer getrieben. Die kleineren rothen Blutkörperchen liegen zum Theil auf der Fläche und lassen die centrale Depression noch erkennen, zum Theil auf der Kante und zeigen Biscuitformen; eine Anzahl derselben hat Stechapfelformen angenommen. — Links zeigen sich Epithelien, von welchen die geschwänzten aus dem Nierenbecken, die plattenförmigen aus der Blase oder Vagina stammen. — Im oberen Ende der Figur sind einige Spermatozoen sichtbar.

Fig. 1.



Fig. 2.

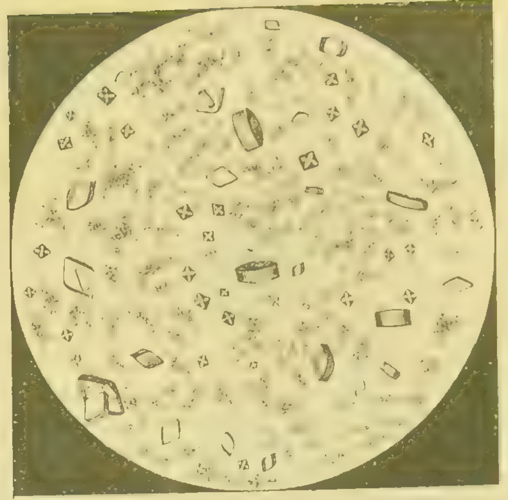


Fig. 3.



Fig. 4.

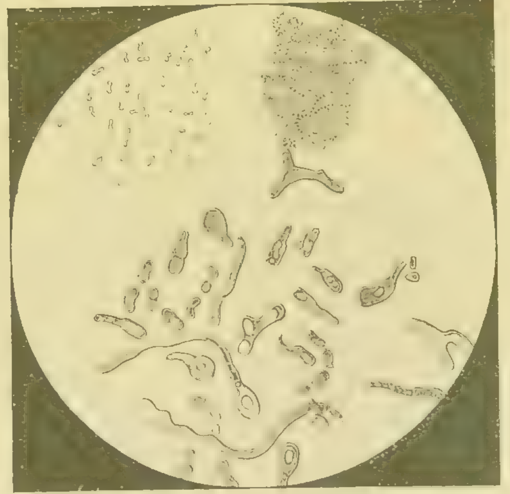
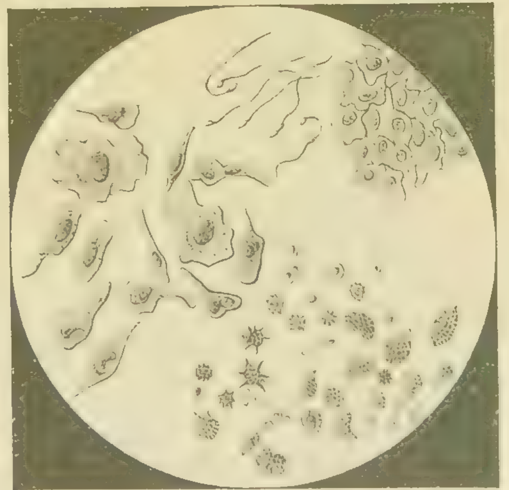


Fig. 5.



Fig. 6.



Tafel III.

Tafel III.

Spectren

1. a. des Sauerstoff-Hämoglobins,
   b. des sauerstofffreien Hämoglobins.

   Vgl. S. 493.

2. Des Methämoglobins
   a. in neutraler.
   b. in alkalischer Lösung.

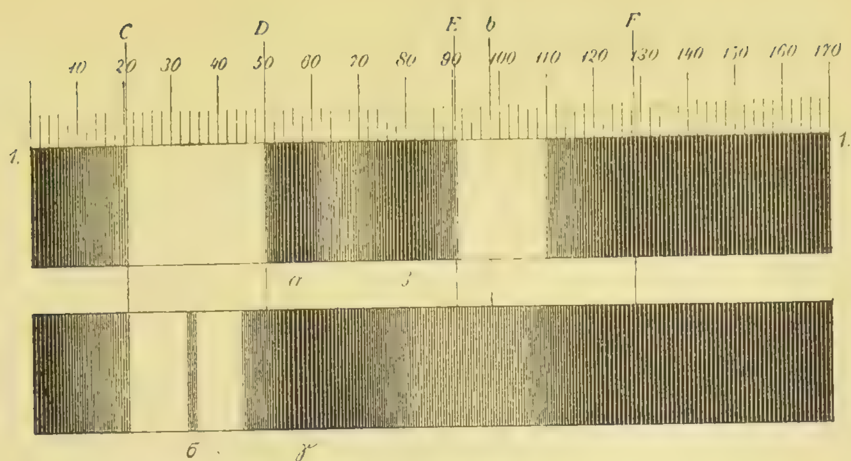
   Vgl. S. 500.

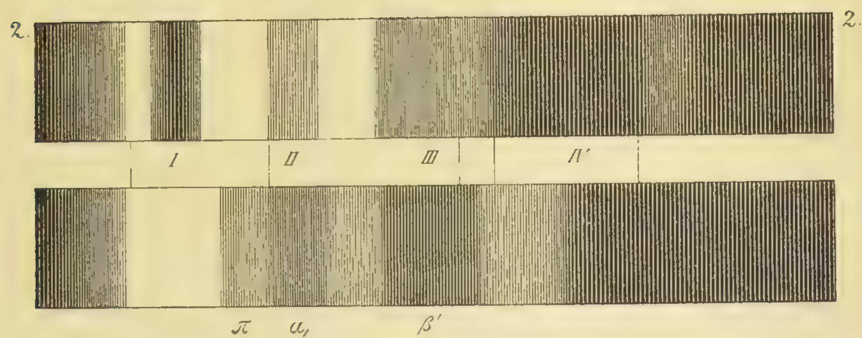
3. a. Des Hämatins in saurer alkoholischer Lösung,
   b. in ammoniakalischer Lösung,
   c. des reducirten Hämatins.

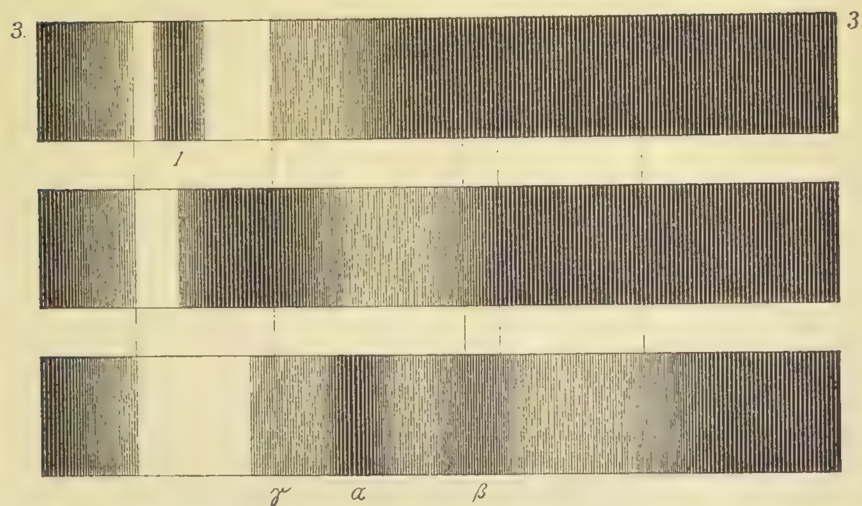
   Vgl. S. 554.

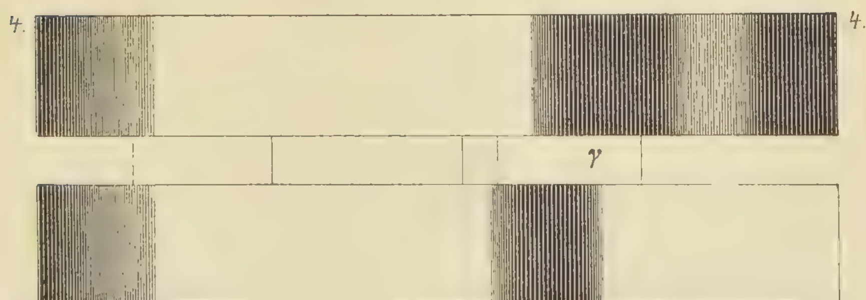
4. a. Des Urobilins in saurer Lösung,
   b. des Zinksalzes in ammoniakalischer Lösung.

   Vgl. S. 522.


C
D
E
b
F
10
20
30
40
50
60
70
80
90
100
110
120
130
140
150
160
170
1.
1.
a
б
γ


2.
2.
I
II
III
IV
π
α,
β'


3.
3.
I
γ
α
β


4.
4.
γ

Tafel IV.

Tafel IV.

Spectren

5. des Hämatoporphyrins
   a. saures,
   b. alkalisches vierbandiges,
   c. neutrales,
   d. metallisches Spectrum.

Vgl. S. 566.

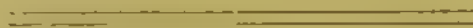
6. Des Bilicyanins
   a. in saurer.
   b. in alkalischer Lösung.

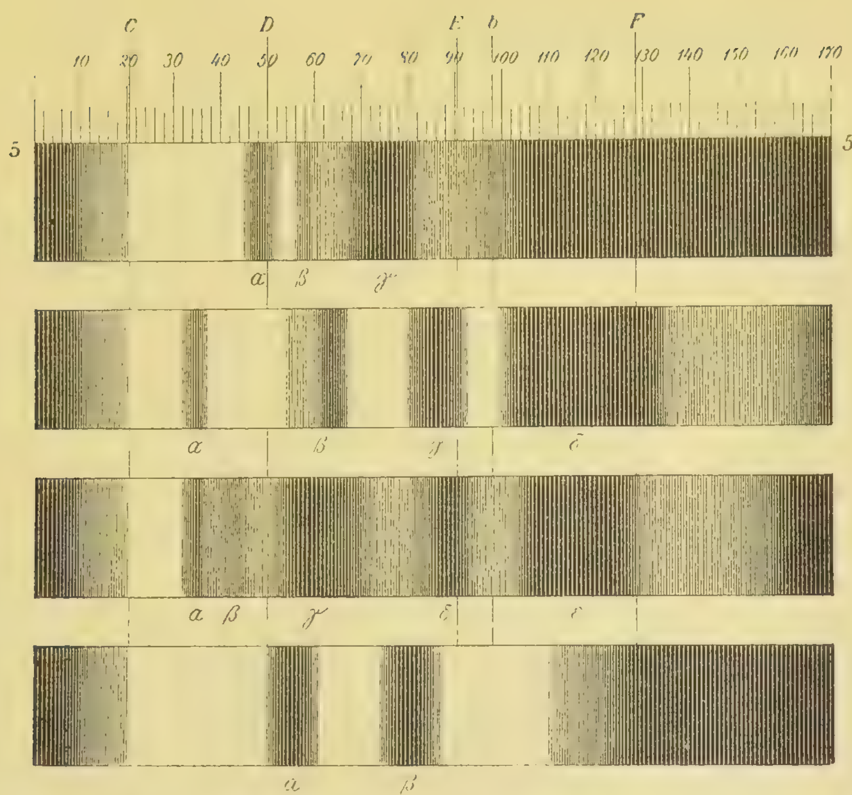
Vgl. S. 545.

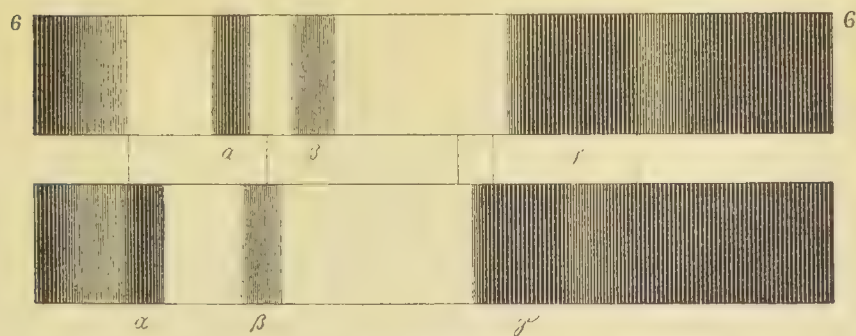
7. Des Uroerythrins.

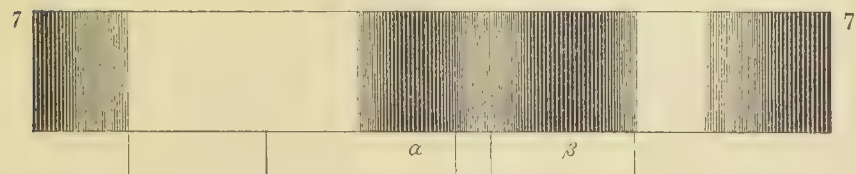
Vgl. S. 583.

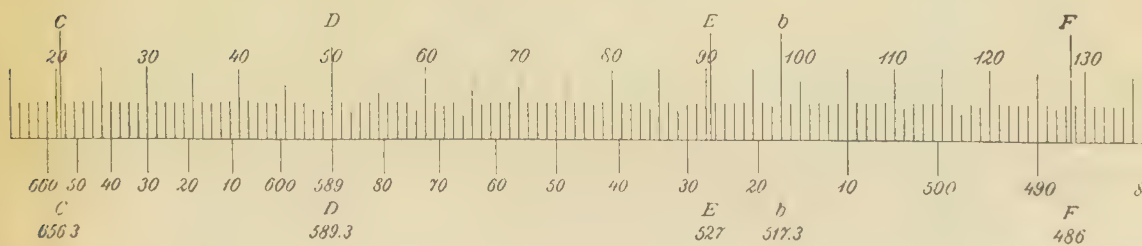
Der Maassstab am Ende der Tafel dient zur Uebertragung der Scalentheile, nach welchen die Spectren gezeichnet worden sind, und des Abstands der Fraunhofer'schen Linien in Wellenlängen und umgekehrt.

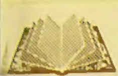



C
D
E
b
F
10 20 30 40 50 60 70 80 90 100 110 120 130 140 150 160 170
5
5
α β γ
α β γ δ
α β γ δ ε
α β


6
6
α β γ
α β γ


7
7
α β


C
D
E
b
F
20 30 40 50 60 70 80 90 100 110 120 130
600 50 40 30 20 10 600 589 80 70 60 50 40 30 20 10 500 490
C
656.3
D
589.3
E
527
b
517.3
F
486



ISO 9002